Untersuchungen zur circadianen Rhythmik im Elektroretinogramm (ERG) der Komplexaugen von Tenebrio molitor (Mehlkäfer): interne Synchronie, interne Asynchronie, Exchronie und Einfluß der Temperatur

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur

Erlangung des Doktorgrades

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Franz-Josef Schmitz

aus Düsseldorf

Düsseldorf 1982

Untersuchungen zur circadianen Rhythmik im Elektroretinogramm (ERG) der Komplexaugen von Tenebrio molitor (Mehlkäfer): interne Synchronie, interne Asynchronie, Exchronie und Einfluß der Temperatur

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur

Erlangung des Doktorgrades

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Franz-Josef Schmitz

aus Düsseldorf

Düsseldorf 1982

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

1. Berichterstatter: Prof. Dr. G. Schneider

2. Berichterstatter: Prof. Dr. G. Heide

Tag der mündlichen Prüfung: 3.12.1982

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535703_0001

Inhaltsverzeichnis

0	Termini	1
1	Einleitung	4
2	Methoden	6
2.1	Versuchstiere	6
2.2	Versuchsaufbau	8
2.3	Beleuchtungsstärke	14
2.4	Lokale Erwärmung des Mehlkäferkopfes	14
2.5	Temperaturgradient im Mehlkäferkopf bei lokaler Erwärmung	15
2.6	EDV	17
2.7	Charakteristische Größen des circadianen Rhythmus	17
2.8	Phasenresponse	18
2.9	Statistische Auswertung	18
3	Ergebnisse	19
3.1	Der circadiane Rhythmus des Elektroretinogramms	19
3.2	Die Temperaturabhängigkeit der ERG-Höhe	23
3.3	Der Einfluß niedriger Temperatur auf den circadianen Rhythmus	25
3.3.1	Der Einfluß von 7 °C und 8 °C auf den circadianen Rhythmus	25
3.3.2	Der Einfluß von 10 °C und 11 °C auf den circadianen Rhythmus	27
3.4	Der circadiane Rhythmus unter konstanten Temperaturbedingungen von 15 °C bis 30 °C	28
3.4.1	Statistischer Überblick	28
3.4.2	Intern gleichphasige circadiane Rhythmen bei konstanter Temperatur	31
3.5	Der circadiane Rhythmus unter Einfluß tagesperiodisch alternierender Temperaturen	34
3.5.1	(12 h : 12 h / 11 °C : 20 °C)-Rhythmen	34
3.5.2	(12 h : 12 h / 15 °C : 20 °C)-Rhythmen	37
3.5.3	(12 h : 12 h / 20 °C : 25 °C)-Rhythmen	41
3.5.4	(12 h : 12 h / 20 °C : 30 °C)-Rhythmen	45
3.6	Phasenresponse	48

3.7	Der circadiane Rhythmus unter dem Einfluß lokaler Temperaturrhythmen	50
3.8	Das Fehlen des circadianen Rhythmus bei konstanter Temperatur	55
3.9	Intern verschiedenphasige circadiane Rhythmen	60
3.10	Untersuchungen zur Entstehung von circadianen Rhythmusstörungen	67
3.10.1	Temperaturwechsel und interne Asynchronie	67
3.10.2	Futter	68
3.10.3	Zuchtbedingungen	70
3.10.4	Provenienz	70
3.11	Rhythmusstörungen und Mortalität	73
4	Diskussion	74
4.1	Der circadiane Rhythmus des Elektroretinogramms	74
4.2	Die Temperaturabhängigkeit der ERG-Höhe	76
4.3	Der Einfluß niedriger Temperatur auf den circadianen Rhythmus	78
4.4	Intern gleichphasige circadiane Rhythmen bei konstanter Temperatur	80
4.5	Temperaturzyklen	82
4.6	Phasenresponse	85
4.7	Lokale Temperaturrhythmen	86
4.8	Circadiane Rhythmusstörungen	87
4.9	Rhythmusstörungen und Mortalität	90
4.10	Intern verschiedenphasige circadiane Rhythmen	91
4.11	Ökologische Aspekte	98
5	Zusammenfassung	100
6	Literatur	103
	Danksagung	
	Lebenslauf	

0 Termini

Über das umfangreiche Vokabular der Chronobiologie geben Aschoff et al. (1965) und Halberg & Katinas (1973) eine ausführliche Übersicht. Es wird für diese Arbeit weitgehend übernommen. Hier benutzte Termini sind nachstehend erläutert.

Die Zeit, die ein rhythmischer Vorgang benötigt, um einen Zyklus zu durchlaufen, wird als Periode bezeichnet. Der reziproke Wert der Periode ist die Frequenz. Den jeweiligen Zustand einer Schwingung innerhalb eines Zyklus nennt man Phase.

Vielfach sind physiologische Größen eines Organismus, wie z. B. Exkretion von Ionen, Enzymaktivität oder Körpertemperatur, nicht konstant, sondern unterliegen regelmäßigen Schwankungen. Beträgt die hierbei auftretende Periode 24 h, spricht man von Tagesperiodik. Diese kann exogen oder endogen bedingt sein. Die exogene Tagesperiodik wird durch den Tag-Nacht-Zyklus ausgelöst und aufrechterhalten. Sie kommt zum Erliegen, wenn täglich wiederkehrende Schwankungen in der Umwelt fehlen. Die endogene Tagesperiodik erzeugt der Organismus selbst mittels einer biologischen Uhr bzw. eines Oszillators, dessen molekularer Mechanismus noch unbekannt ist. Werden durch experimentelle Maßnahmen tageszyklische Umweltänderungen vom Organismus ferngehalten, so bleibt der endogene Rhythmus bestehen. Einen solchen Rhythmus, der von anderen Rhythmen nicht beeinflußt wird, nennt man freilaufend. In der Regel dauert die Periode des freilaufenden Rhythmus nicht genau 24 h, sondern weicht geringfügig davon ab. Die endogene Tagesperiodik wird deshalb auch circadiane Rhythmik genannt.

Der natürliche Licht- und Temperaturwechsel beeinflußt den biologischen Oszillator, so daß die Periode unter normalen Umweltbedingungen ebenfalls 24 h beträgt. Haben verschiedene Rhythmen auf Grund ein- oder wechselseitiger Beeinflussung gleiche Frequenz, so spricht man von Synchronisation oder Mitnahme. Schwingungen der Umwelt, wie z. B. Tag-Nacht-Rhyth-

mus, werden Zeitgeber genannt, wenn sie den biologischen Rhythmus synchronisieren.

Der endogene Rhythmus nimmt eine bestimmte Phasenlage zum Zeitgeber ein. Z. B. ist bei der tagesperiodischen Laufaktivität des Mehlkäfers die Aktivitätszeit nachts und die Ruhezeit tags. Den Zeitabschnitt der circadianen Periode, der unter natürlichen Licht- und Temperaturverhältnissen tagsüber auftritt, nennt man subjektiven Tag und entsprechend den, der normalerweise nachts liegt, subjektive Nacht. Werden die normalen, einem stetigen Wandel unterliegenden Einflüsse der Umgebung ausgeschaltet und konstante Umweltbedingungen künstlich geschaffen, kann für ein Tier auch am objektiven Tag subjektive Nacht sein, weil sich unter diesen Bedingungen die Phasenlage des circadianen Rhythmus gegen die objektive Tageszeit verschoben hat.

Um festzulegen, in welcher Phase der circadiane Rhythmus sich befindet, benutzt man als Bezugssystem die circadiane Zeit (CZ). Diese erstreckt sich über eine circadiane Periode, wobei sie mit CZ 0 beginnt und bei CZ 24 endet. Der Nullpunkt kann willkürlich gewählt werden. Er ist in dieser Arbeit gleich dem Anfang der subjektiven Nacht. Vielfach wird die Lage eines Zeitpunktes innerhalb einer circadianen Periode auch als Phasenwinkel φ angegeben. Dann ist CZ 0 = 0° und CZ 24 = 360°. Der Begriff "Phasenwinkel" kann auf jeden periodischen Vorgang angewendet werden, also auch auf Zeitgeberrhythmen. Hier wird für rechteckförmige Temperaturrhythmen der Beginn der Temperaturabsenkung als Phasenwinkel 0° festgelegt.

Die externe Phasenwinkeldifferenz gibt die Lage des circadianen Rhythmus in bezug auf den Zeitgeberzyklus an. Sie entspricht dem Phasenwinkel des externen Rhythmus zu dem Zeitpunkt an dem der circadiane Rhythmus den Phasenwinkel 0° erreicht. Der voreilende circadiane Rhythmus hat ein positives und der nachhinkende ein negatives Vorzeichen. Beträgt die Phasenwinkeldifferenz 0° bzw. 180°, so sagt man, die beiden Rhythmen befinden sich "in Phase" bzw. "in Antiphase". Ändert sich

die externe Phasenwinkeldifferenz, d. h. hat der circadiane Rhythmus eine andere Periode als der Zeitgeberrhythmus, dann liegt externe Asynchronie vor.

Werden zwei circadiane Rhythmen eines Organismus verglichen, spricht man von interner Phasenwinkeldifferenz. Beginnen die subjektiven Nächte der beiden Rhythmen gleichzeitig, beträgt also die interne Phasenwinkeldifferenz 0°, so wird hier von intern gleichphasigen Rhythmen gesprochen. Besteht eine interne Phasenwinkeldifferenz, dann sind die circadianen Rhythmen intern verschiedenphasig. Ist die interne Phasenwinkeldifferenz nicht konstant sondern ändert sich, haben also die beiden Rhythmen unterschiedliche Perioden, so wird dies als interne Asynchronie bezeichnet. Für die Änderung der Phasenwinkeldifferenz pro Zeiteinheit wird hier die Bezeichnung "Phasendrift" eingeführt.

Weichen charakteristische Merkmale des circadianen Rhythmus, wie z. B. Frequenz, Amplitude oder Schwingungsform, von der Norm ab und überschreiten dabei bestimmte statistische Toleranzgrenzen, spricht man von circadianer Exchronie. Ist diese auf einen nachweisbaren physiologischen Defekt zurückzuführen, so verwendet man den Begriff "circadiane Dyschronie".

Ein sprunghafter Wechsel der Temperatur oder der Beleuchtung kann eine Phasenverschiebung $\Delta\varphi$ hervorrufen. Dies ist eine zeitliche Versetzung des circadianen Rhythmus. Je nachdem ob die von der Temperaturänderung betroffene Periode verkürzt oder verlängert wird, spricht man von Verfrühung $+\Delta\varphi$ oder Verzögerung $-\Delta\varphi$. Das Ausmaß der Phasenverschiebung hängt von der Phase des circadianen Rhythmus ab, zu welcher der Temperaturwechsel einsetzt. Dieser Zusammenhang wird in der Phasenresponsekurve dargestellt. Bei dieser gibt der Abszissenwert den Zeitpunkt des Temperaturwechsels in circadianer Zeit oder als circadianen Phasenwinkel φ und der Ordinatenwert die zur jeweiligen Zeit erfolgende Phasenverschiebung $\Delta\varphi$ an.

1 Einleitung

Bei Tenebrio molitor L. weist die Höhe des Elektroretinogramms einen circadianen Rhythmus auf, wenn das Komplexauge kontinuierlich mit einem Flickerlicht gereizt wird, dessen Spitzenlichtstärke gleich bleibt (Schneider unveröffentlicht).

Circadiane Lichtempfindlichkeitsänderungen des Komplexauges sind auch bei verschiedenen anderen Käfern festgestellt worden, und zwar bei den vier Carabidenarten Chlaenius diffinis, C. tomentosus, Harpalus pennsylvanicus und H. caliginosus und dem Wasserkäfer Hydrus triangularis (Jahn & Crescitelli 1940), Dytiscus fasciventris (Jahn & Wulff 1943), Blaps gigas und B. requienii (Köhler & Fleissner 1978) und dem Scarabaeiden Anoplognathus pallidiscollis (Meyer-Rochow & Horridge 1975), sowie unter den sonstigen Arthropoden beim Skorpion Androctonus australis (Fleissner 1974) und den Krebsen Procambarus clarki (Aréchiga & Wiersma 1969, Page & Larimer 1975) und Scylla serrata (Leggett & Stavenga 1981).

Neben dem Elektroretinogramm ändern sich beim Mehlkäfer auch Pupillenweite (Wada & Schneider 1968), Laufaktivität (Cloudsley-Thompson 1953, Lohmann 1964) und Empfindlichkeit gegen das Insektizid Methyl-Parathion (Fondacaro & Butz 1970) in einem circadianen Rhythmus. Larven von Tenebrio molitor zeigen einen tagesperiodischen und lunaren Rhythmus im Sauerstoffverbrauch (Michal 1931, Campbell 1964).

Eine umfassende Zusammenstellung der Literatur über circadiane Rhythmen bei Insekten bietet Brady (1974). Über Publikationen zur neuralen Regulation der circadianen Rhythmen geben Rusak & Zucker (1979) eine Übersicht.

In der vorliegenden Arbeit wird der Einfluß von konstanten Temperaturen, Temperaturzyklen und Temperatursprüngen auf den circadianen ERG-Rhythmus bei Imagines von Tenebrio molitor untersucht. Besondere Aufmerksamkeit wird dabei dem Auftreten von intern asynchronen Rhythmen und dem Fehlen von circadianen

Rhythmen gewidmet. Interne Asynchronie zwischen den circadianen Rhythmen der beiden Komplexaugen sind ein Hinweis dafür, daß Tenebrio molitor zwei circadiane Oszillatoren besitzt. Experimente mit konkurrierenden lokalen Temperaturrhythmen am Mehlkäferkopf sollen näheren Aufschluß über den Mechanismus intern asynchroner Rhythmen geben.

2 Methoden

2.1 Versuchstiere

Zu Versuchsbeginn sind die Imagines von Tenebrio molitor in der Regel 5 bis 15 d alt. Sie stammen aus der Zucht des Institutes für Zoologie 1 der Universität Düsseldorf. Die Mehlkäfer werden in einem Wärmebrutschrank herangezogen, der eine konstante Temperatur von 24,5 $\pm$ 0,5 °C hat und in dem ein künstlicher Wechsel von je 12 h Helligkeit und Dunkelheit herrscht. Während der Hellphase ist eine 20-W-Leuchtstoffröhre eingeschaltet, die sich hinter einem schmalen schwarzen Pappstreifen befindet, so daß nur indirektes Licht zu den Tieren gelangt. Als Futter dient ein Gemisch aus ca. 10 Teilen Weizenkleie und 1 Teil Hefe. Ein- bis zweimal pro Woche wird feuchtes Papier oder ein schwach angefeuchteter Lappen in die Zuchtkästen, die aus durchsichtigem Kunststoff bestehen, gelegt.

Seit Mai 1978 werden Käfer aus Düsseldorfer Tierhandlungen verwendet, weil die Tiere der Institutszucht nur noch ein sehr kleines ERG von 0,03 - 0,12 mV Höhe liefern. Das niedrige ERG beruht vermutlich auf Vitaminmangel. Hefe hat zwar einen hohen Gehalt an Wirkstoffen der B-Gruppe, ihr fehlen aber die Vitamine A und B_{12} (Reiff 1968). So ist auch bei Stubenfliegen, die eine Diät ohne Carotinoide und Retinol erhalten, die elektrophysiologisch gemessene Lichtempfindlichkeit der Augen gut 100mal niedriger als normal (Goldsmith et al. 1964).

Nachdem dem Futter der Mehlkäfer aus der Institutszucht Möhren zugesetzt werden, hat das ERG wieder normale Höhe. Danach, von März 1979 an, werden auch wieder diese Tiere für Untersuchungen benutzt.

Weil die circadianen Rhythmen bei vielen Mehlkäfern intern asynchron sind, was bei früheren Experimenten von G. Schneider niemals zu beobachten war (mündliche Mitteilung), werden von Januar 1979 an auch Käfer verschiedener Provenienz untersucht

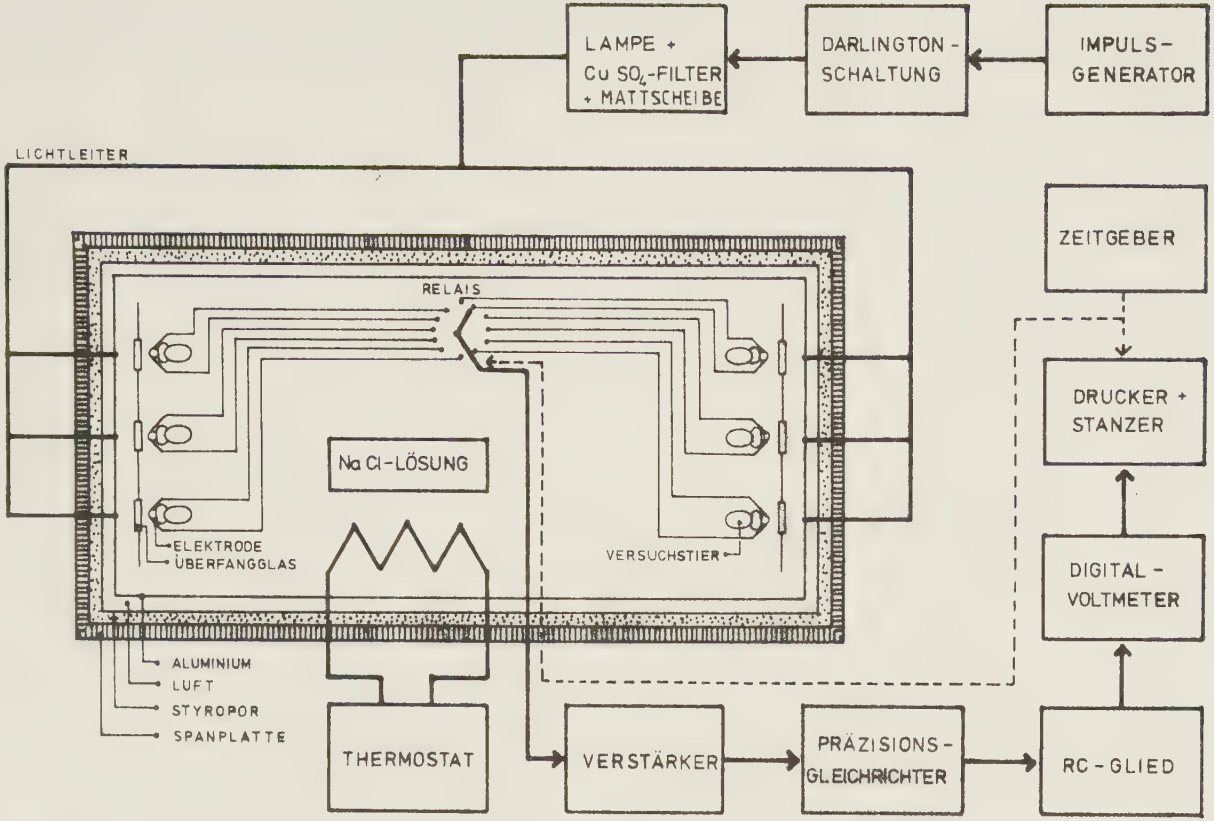

ABB. 1 SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DES VERSUCHAUFBAUS

und außerdem ab Mitte 1979 die Aufzuchtbedingungen variiert. Seit Mai 1979 wird ein Teil der Käfer nicht mehr im Wärmebrutschrank, sondern im Labor bei natürlichen Lichtverhätnissen gehalten.

Ab September 1979 erhalten einige Käfer anderes Futter, nämlich ein Gemisch aus ca. 2 Teilen Weizenmehl und 1 Teil Haferflocken, dem in den ersten beiden Monaten statt Möhren Milchpulver zugestzt wird. Im September und Oktober 1979 wird dem Futter aller Tiere Cholesterin beigemengt. Insekten besitzen kein Enzymsystem zur Synthese von Steroiden und benötigen deshalb Sterine als essentielle Nahrungsbestandteile (Robbins et al. 1971). Das Papier und die Lappen in den Zuchtkästen werden ab September 1979 nicht mehr mit Leitungs- sondern mit destilliertem Wasser angefeuchtet.

2.2 Versuchsaufbau

Abb. 1 stellt schematisch den Versuchsaufbau dar. Die Experimente werden in einem Aluminium-Abschirmkasten durchgeführt, der durch eine Styroporschicht und ein Gehäuse aus Spanplatten thermisch isoliert ist. Im Abschirmkasten kann eine gewünschte Temperatur eingestellt werden, da Boden und Decke Kanäle enthalten, die an das Wasser-Umlaufsystem eines Kälte-Kleinthermostat-Gerätes angeschlossen sind. Der Kleinthermostat ist mit zwei Kontaktthermometern ausgerüstet, die über eine Schaltuhr abwechselnd das Gerät regeln können und dann automatisch einen Temperaturrhythmus erzeugen. Wird die Temperatureinstellung am Thermostat um 5 ^{o}C erhöht oder erniedrigt, dauert es ca. 45 min bis die Luft im Abschirmkasten die neue Temperatur angenommen hat. Eine Änderung um 10 ^{o}C benötigt etwa die doppelte Zeit.

Eine Schale mit Säure oder gesättigter Salzlösung bewirkt im Abschirmkasten gleichbleibende Luftfeuchtigkeit (v. Angerer-Ebert 1966, Janisch 1938). Für die ersten Versuche wird gesättigte $CaCl_2$-Lösung benutzt. Diese erzeugt bei 20 ^{o}C 40 %

Luftfeuchtigkeit. Bei Verwendung von Salzlösungen ändert sich die Luftfeuchtigkeit zumeist stark mit der Temperatur. Um diesen Effekt auszuschließen, wird später eine Schale mit 40- bzw. 50%iger H_2SO_4 in den Abschirmkasten gestellt. Bei diesen Experimenten sterben fast alle Käfer nach 4 - 8 d. Deshalb wird nach 14 Versuchen keine Säure mehr verwendet, sondern gesättigte Kochsalzlösung benutzt, bei der im Vergleich zu anderen Salzlösungen nur eine geringe Temperaturabhängigkeit der Luftfeuchtigkeit auftritt. So beträgt die relative Luftfeuchtigkeit bei 20 °C 85 % und bei 15 °C 88 %.

Im Abschirmkasten ist an zwei gegenüberliegenden Seiten in 3 cm Entfernung von der Wand je ein 5 cm breiter und 26 cm langer Streifen aus schwarzer Pappe befestigt, der in gleichmäßigen Abständen drei runde Öffnungen von 3 cm Durchmesser enthält. Scheiben aus Überfangglas decken diese Löcher ab. Hinter jeder Öffnung ist die Seitenwand des Kastens durchbohrt. in den 6 Bohrungen enden Lichtleiter (Durchmesser 2,5 mm) zur Beleuchtung der vor ihnen liegenden Fenster.

Die Lichtleiter kommen aus einem lichtundurchlässigen Metallgehäuse, in dem eine Halogenlampe (Typ 6463, 15 V, 150 W) in KL-150-Fassung (Fa. Schott, Mainz) als Lichtquelle dient. Die ersten Versuche mit 1 bzw. 2 Lichtleitern wurden mit einer Glühlampe (Typ 8110, 6 V, 5 A) in Monla-Gehäuse durchgeführt. Zwischen Lichtleitern und Lichtquelle befinden sich eine Mattscheibe und außerdem in einer Quarzküvette Kupfersulfatlösung (1,14 g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ in 100 ml, Schichtdicke 5 cm, nach v. Angerer-Ebert 1966, S. 315), um die für das Käferauge schädliche Wärmestrahlung zu absorbieren. Die Lichtquelle wird mit Gleichstrom betrieben. Ein Funktionsgenerator schaltet sie über einen Darlington-Transistor (MJ 3000) mit einer Frequenz von 1 Hz ein und aus. Die Lichtimpulse haben einen exponentiellen Anstieg und Abfall. Je nach Einstellung der Strom- und Spannungsbegrenzung am Netzgerät variiert nicht nur die maximale Intensität der Lichtimpulse, sondern auch ihre Form. Dabei nähert sich der exponentiell ansteigende und abfallende Verlauf mehr der Rechteck- oder mehr der Drei-

eckform. Die Bodenbreite der Impulse beträgt bei nahezu dreieckigen Impulsen 0,5 s und bei fast rechteckigen 0,75 s. Die meisten Versuche werden mit annähernd dreieckigen Impulsen durchgeführt.

Über die Lichtleiter gelangt das Licht in den Abschirmkasten. Dort befinden sich ca. 1 cm hinter den beleuchteten Fenstern aus Überfangglas die Versuchstiere. Jedes klebt in Bauch- oder Rückenlage auf einem Stift, der an einem kleinen Elektrodenhaltertisch befestigt ist. Als Klebemittel dient zunächst Wachskolophonium (ca. 1 Teil Bienenwachs und 3 Teile Kolophonium) und später Wachspicein (ca. 1 Teil Bienenwachs und 3 Teile Picein 80; Picein-Dichtungskitt: New York Hamburger Gummi-Waren Comp., Hamburg). Die Beine der Käfer sind amputiert, damit sie während des Versuches nicht die Elektroden herausreißen können.

Als Elektroden werden mit HCl geätzte Insektennadeln CCC verwendet. Anfangs, bei nur einseitiger Registrierung, wird in ein Auge des Versuchstieres die Ableitelektrode oberflächlich eingeführt und die Bezugselektrode tief in das andere. In den späteren Versuchen wird das ERG von beiden Komplexaugen abgeleitet. Die Bezugselektrode befindet sich dann im ventralen posterioren Abschnitt der Gena.

Die vom Käferauge abgeleiteten elektrischen Potentiale, die als Antwort auf die Lichtimpuls-Reize entstehen, werden durch einen Zweikanal-Gleichstromvorverstärker (Tönnies, Nr. 242) bei DC-Koppelung 500fach verstärkt. Ein Präzisionsgleichrichter (Vahldiek 1973, S. 108), der schon im mV-Bereich wie eine ideale Diode arbeitet, und ein darauf folgendes RC-Glied mit hoher Lade- und Entladekonstante verwandeln das Signal in eine Gleichspannung, deren Höhe proportional zur ERG-Amplitude ist (Abb. 2 A). Die Gleichspannung wird von einem Digitalvoltmeter, das einen Druckerausgang besitzt, gemessen. In gleichen Zeitabständen wird der vom Digitalvoltmeter gemessene Wert auf einem Terminal ausgedruckt und auf Lochstreifen gestanzt. Den Druckbefehl erteilt ein Ansteuerungsgerät, an dem das gewünschte Zeitintervall eingestellt wird.

Zu Beginn dieser Arbeit sind nur jeweils an einem der beiden Komplexaugen eines Mehlkäfers die Belichtungspotentiale registriert worden, weil sich bei den Experimenten von G. Schneider (persönliche Mitteilung) die Rhythmen der beiden Augen eines Mehlkäfers immer in gleicher Phase befanden. Später, bei Untersuchungen mit lokaler Erwärmung des Kopfes, werden dann doch beidseitige ERG-Ableitungen durchgeführt. Dabei stellte sich heraus, daß auf beiden Augen eines Tieres circadiane Rhythmen mit unterschiedlichen Perioden sein können.

Im Laufe der Zeit wird die Versuchsanlage mehrmals erweitert. Bei den ersten Versuchen besteht nur die Möglichkeit, das ERG eines Auges zu registrieren. Nach der ersten Ausweitung kann gleichzeitig von 2 Augen abgeleitet werden. Dabei wird für jedes Auge ein eigener Verstärker benötigt. Die beiden Verstärker werden abwechselnd über ein Stromstoßrelais an den Präzisionsgleichrichter angeschlossen. Alle 5 min erfolgt die Ausgabe eines Meßwertes an das Terminal. Pro Auge wird also alle 10 min ein Wert registriert.

Die nächste Erweiterung der Anlage ermöglicht die Messung an 4 Augen. Die 4 Ableitelektroden sind an die Eingangskontakte von zwei Relais angeschlossen. Jedes Relais besitzt zwei Eingänge, von denen stets einer mit dem Ausgang verbunden ist. Dieser führt zu einem Verstärker mit dahintergeschaltetem Präzisionsgleichrichter und RC-Glied. Die beiden RC-Glieder werden abwechselnd über ein weiteres Relais mit dem Digitalvoltmeter verbunden. Nach jedem Ausdrucken, das alle 2,5 min erfolgt, schaltet ein vom Zeitgeber kommender Impuls dieses dritte Relais und zugleich dasjenige der beiden anderen Relais um, das bis zu diesem Zeitpunkt mit dem Digitalvoltmeter verbunden ist (Abb. 2 B). So gelangen für 5 min die ERG-Signale einer Ableitelektrode zu einem RC-Glied, bevor der Meßwert ausgedruckt wird. Schneller darf nicht umgeschaltet werden, da die RC-Glieder eine Lade- und Entladekonstante von 66 s haben und somit einige Minuten benötigen, sich auf den neuen Wert einzustellen.

Die letzte Ausbaustufe der Apparatur ermöglicht die Registrierung von 12 Elektroretinogrammen bei einem einzigen Versuch. An den Eingängen eines 12-Kanal-Schrittschaltrelais liegen die Ableitelektroden, die in den 12 Augen von 6 Versuchstieren implantiert sind. Für jeweils 1 min verbindet das Schrittschaltrelais die Ableitelektrode eines Auges mit dem Verstärker. Dann wird der Meßwert ausgedruckt und das Relais zum nächsten Auge umgeschaltet. Pro Auge wird somit alle 12 min ein Meßwert erfaßt. Das Umschalten im 1-min-Takt ist möglich, weil Lade- und Entladekonstante des hierbei benutzten RC-Gliedes nur 16 s betragen. Zwar können Störspannungen, die ab und zu dem ERG überlagert sind, den Kondensator nun schneller aufladen als bei den zuvor benutzten Lade- und Entladekonstanten von 66 s, aber sie sind nur bei sehr kleinem ERG bedeutsam. Normalerweise ist das ERG einige 100 µV hoch, und dann ist eine Registrierung auch bei der kleineren Zeitkonstante problemlos.

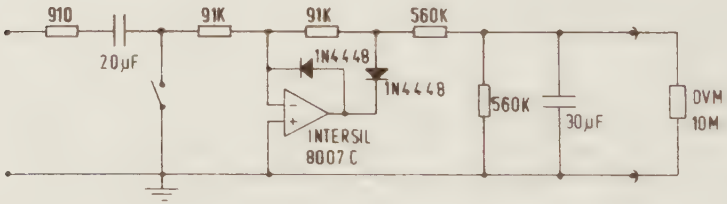

Abb. 2 A: Präzisionsgleichrichter mit angeschlossenem RC-Glied und Digitalvoltmeter (DVM).

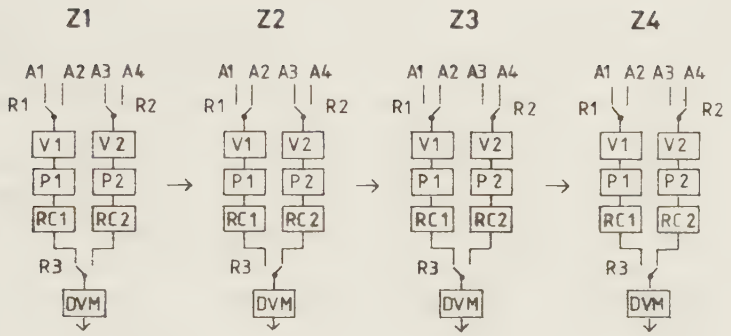

Abb. 2 B: Schaltschema für die ERG-Ableitung an 4 Augen. In 2,5 min Abstand werden das Relais R3 und abwechselnd eines der beiden Relais R1 oder R2 automatisch umgeschaltet. In einem 10-min-Zyklus durchlaufen dann die Relais die Schaltzustände Z1 - Z4. Nach Z4 beginnt wieder Z1. Auf diese Weise wird während eines Zyklus jede der 4 Ableitelektroden (A1 - A4) für 5 min über einen Verstärker (V1, V2) und einen Präzisionsgleichrichter (P1, P2) mit einem RC-Glied (RC1, RC2) und für 2,5 min mit einem Digitalvoltmeter (DVM) verbunden.

2.3 Beleuchtungsstärke

Die Beleuchtungsstärke der Reizlichtimpulse mißt ein Photodetector UDT 500/UV (United Detector Technology, Santa Monica, California). Er steht hierzu an der Stelle vor dem Überfangglas, wo sich während des Versuches die beiden Augen des Käfers befinden. Ein entsprechend zurechtgeschnittener Pappstreifen, der genau zwischen Überfangglas und Auge bzw. Photodetector paßt, gewährleistet die Einhaltung des gleichen Abstandes.

Der Photodetector UDT 500/UV wird mit einem Standard-Luxmeter (G. A. 203, Lange, Berlin) in lx geeicht. Dies geschieht im Abschirmkasten bei Dauerlicht unter den Lichtverhältnissen, die beim Versuch herrschen. Für die Versuche kann das Luxmeter nicht verwendet werden, weil es für die Reizlichtimpulse zu träge ist.

2.4 Lokale Erwärmung des Mehlkäferkopfes

Bei Versuchen mit lokaler Erwärmung des Mehlkäferkopfes dient ein V-förmig gebogener Wolfram-Draht (Ø = 0,1 mm) als Mini-Heizung. Die beiden Enden dieses Drahtes sind über Zuführungskabel an ein Gleichstrom-Netzgerät angeschlossen, das als Konstantstromquelle arbeitet. Meist sind bei gleichzeitigen Untersuchungen 6 derartige Mini-Heizungen hintereinandergeschaltet. Die Heizleistung ergibt sich aus dem gemessenen Spannungsabfall und Strom durch die Mini-Heizung.

Eine Halterung plaziert die V-förmige Spitze des Heizdrahtes an die gewünschte Kopfregion. Zunächst wird der Heizungsdraht für wenige Sekunden stärker erwärmt. Ein winziger Tropfen Wachskolophonium an seiner Spitze, der hierdurch bis zur Kutikula fließt und eine Verbindung mit ihr herstellt, soll so einen guten Wärmeübergang gewährleisten.

Während des Versuches verbindet eine Schaltuhr den Heizdraht im gewählten Rhythmus mit der Stromquelle. Bei manchen Experimenten sind 2 Heizungen an unterschiedlichen Kopfregionen

angebracht, die von verschiedenen Netzgeräten versorgt werden und einen durch zwei Schaltuhren gesteuerten unterschiedlichen Heizrhythmus besitzen.

2.5 Temperaturgradient im Mehlkäferkopf bei lokaler Erwärmung

Die Temperaturausbreitung im Mehlkäferkopf unter Einfluß lokaler Erwärmung wird mit einem Mikrothermistor (GC 32 J1, Fenval) gemessen. Dieser besitzt eine ovale Form und ist 0,6 mm lang und 0,4 mm breit. Seine Zuführungsdrähte werden mit Lack isoliert und an einer Halterung befestigt. Um den sehr dünnen Zuführungsdrähten besseren Halt zu verleihen, werden sie zwischen zwei Tesafilm-Streifen geklebt, so daß nur der Thermistor herausragt. Dieser liegt in einer Brückenschaltung mit einem Amperemeter (Vollausschlag 50 µA) als Anzeigeinstrument. Der Thermistor wird in einem Wasserbad geeicht, dessen Temperatur mit einem Thermostat in 1-^{o}C-Stufen verändert wird. Das Referenz-Quecksilberthermometer ist auf 0,1 ^{o}C genau ablesbar.

Der Temperaturgradient im Mehlkäferkopf wird im Abschirmkasten bei 18 ^{o}C und einer Mini-Heizung-Leistung von 120 mW am lebenden Tier gemessen. Berührt der Thermistor den Heizdraht, zeigt er eine Temperatur von 31,5 ^{o}C an. Der Heizdraht ist mit Wachskolophonium an der Kopfober- oder -unterseite zwischen beiden Augen des in Bauch- oder Rückenlage befestigten Käfers angebracht. Bei der Temperaturmessung wird der Thermistor unterschiedlich tief in eine Öffnung eingeschoben, die zuvor mit einer Nadel ins Käferauge präpariert wurde, und jeweils der Abstand zwischen Mini-Heizung und Thermistormittelpunkt bestimmt.

Im Mehlkäferkopf beträgt die Temperatur bei 0,1 - 0,7 mm Abstand von der Mini-Heizung 24,2 $\pm$ 0,4 ^{o}C (n = 6). Zwischen 0,8 mm und 1,5 mm Entfernung sinkt die Temperatur und bleibt von da ab auch bei noch größerer Distanz vom Heizdraht unverändert 21,2 $\pm$ 0,1 ^{o}C (n = 6) (Abb. 3).

Die gemessene Temperaturkurve gibt den tatsächlichen Temperaturverlauf allerdings verzerrt wieder, weil der Thermistor nicht ideal punktförmig ist, sondern eine endliche Ausdehnung besitzt. Obwohl der kleinste im Handel zu erhaltene Thermistor verwendet wird, ist er nur ca. 4mal kürzer als der 2,6 ± 0,1 mm (n = 19) breite Mehlkäferkopf. Man kann davon ausgehen, daß der Thermistor in einem Temperaturgefälle einen Mittelwert liefert, der in erster Näherung der Temperatur in der Mitte des Thermistors entspricht. Ein Temperatursprung, der eine wesentlich kürzere räumliche Ausdehnung hat als der Meßfühler, erscheint deshalb in der gemessenen Kurve um die Ausdehnung des Thermistors verbreitert. Möglicherweise ist also der beobachtete Temperatursprung im Mehlkäferkopf nicht 0,7 mm breit, sondern nur 0,1 mm. Darüberhinaus sind Störungen des Hämolymphe-Kreislaufes und Änderungen der Konvektion durch das vorgebohrte Loch möglich. Die Messungen geben also vermutlich nur ungefähr die Größenordnung des Temperaturgradienten wieder.

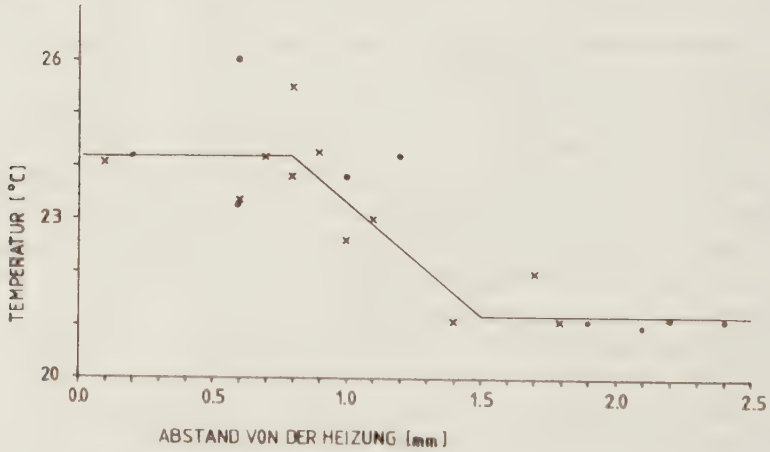

Abb. 3: Temperaturgefälle im Mehlkäferkopf bei lokaler Erwärmung, gemessen mit einem Mikrothermistor GC 32 J1. Eine Mini-Heizung (120 mW, 31,5 °C) ist mit einem winzigen Wachskolophoniumtropfen am Mehlkäferkopf befestigt und sorgt für lokale Erwärmung bei einer Umgebungstemperatur von 18 °C. Heizung an der Kopfunterseite (•) oder -oberseite (×) befestigt. Messung an 5 Käfern (2 Käfer: Kopfoberseite, 3 Käfer: Kopfunterseite).

2.6 EDV

Im Rechenzentrum der Universität Düsseldorf überträgt eine Datenverarbeitungsanlage Siemens 4004 mit Assembler-Programm die Meßwerte vom Lochstreifen auf Magnetband. Die Weiterverarbeitung für das Plotten erfolgt anfangs ebenfalls auf der Siemens 4004. Später wird hierfür und für die statistische Auswertung ein Rechner TR 445/DUET benutzt. Dabei werden eigene Fortran- und Algol-Programme sowie Bibliotheksunterprogramme und SPSS-Programme verwendet.

2.7 Charakteristische Größen des circadianen Rhythmus

Für die Versuchsauswertung werden Beginn der subjektiven Nacht und des subjektiven Tages graphisch aus den geplotteten Meßwerten ermittelt. Wie in Abb. 4 zu sehen ist, wird hierzu je eine Gerade durch die Meßpunkte während des subjektiven Tages (1), des circadianen Anstiegs (2) und des circadianen Abfalls (3) gezogen. Der Schnittpunkt der beiden ersten Geraden legt den Beginn der subjektiven Nacht (A bzw. A'), d. h. den Phasenwinkel 0° fest, und der Schnittpunkt der ersten mit der dritten Geraden den Beginn des subjektiven Tages (B).

Die interne Phasenwinkeldifferenz zwischen phasenverschobenen circadianen Rhythmen ist gleich dem Phasenwinkel des Rhythmus mit der kürzeren Periode zu dem Zeitpunkt, an dem der Phasen-

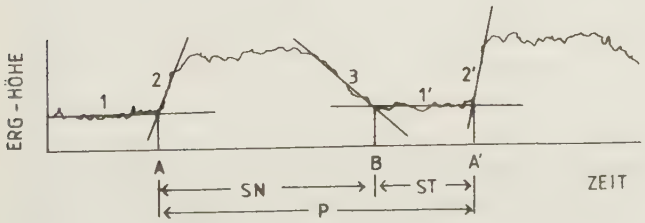

Abb. 4: Graphische Festlegung von subjektiver Nacht (SN), subjektivem Tag (ST) und Periode (P) beim circadianen ERG-Rhythmus. Siehe Text.

winkel des Rhythmus mit der längeren Periode 0^{o} erreicht. Die so gemessenen internen Phasenwinkeldifferenzen werden in einem Diagramm gegen die Zeit aufgetragen (siehe z. B. Abb. 34) und daraus die Phasendriften für verschiedene Phasenwinkeldifferenzen ermittelt. Hierzu werden an eine solche Kurve mit dem Lineal Tangenten bei bestimmten internen Phasenwinkeldifferenzen eingezeichnet. Die zugehörigen Phasendriften ergeben sich dann aus den Tangentensteigungen.

2.8 Phasenresponse

Zur Untersuchung der Phasenverschiebung des circadianen Rhythmus in Abhängigkeit von der circadianen Zeit wird die Temperatur im Abschirmkasten zunächst ca. 1 Woche konstantgehalten und dann sprunghaft geändert. Der Temperatursprung erfolgt bei den einzelnen Mehlkäfern zu unterschiedlichen circadianen Zeiten. Die hervorgerufene Phasenverschiebung des circadianen Rhythmus wird hier definiert als $P_M - P_T$, wobei P_M das arithmetische Mittel der 4 circadianen Perioden vor dem Temperatursprung und P_T die Periode des circadianen Zyklus mit dem Temperatursprung ist. Eine Verfrühung hat somit ein positives und eine Verzögerung ein negatives Vorzeichen.

2.9 Statistische Auswertung

Für die statistische Auswertung werden die Tabellen und Formeln aus "Angewandte Statistik" von Sachs (1978) und "Grundlagen der Statistik" von Clauss & Ebner (1972) verwendet. Zusätzlich wird das Buch "Varianzanalyse" von Glaser (1978) herangezogen.

Die Comuter-Auswertung geschieht mit SPSS-Programmen (Nie et al. 1975). Für die Varianzanalyse wird das SPSS-Programm ANOVA verwendet.

3 Ergebnisse

3.1 Der circadiane Rhythmus des Elektroretinogramms

Bei allen Versuchen werden die Komplexaugen der Mehlkäfer mit einem Flickerlicht von 1 Hz gereizt. Als Reaktion auf einen Lichtimpuls bildet das ERG eine negative Zacke, der in der Dunkelheit zwischen zwei Lichtimpulsen eine kleinere positive Zacke folgt (Abb. 5). Zu Beginn der einzelnen Versuche ist das ERG zwischen 0,3 - 1,4 mV hoch. Bevor die Käfer auch Möhren als Futter erhalten, betrug die ERG-Höhe nur 0,05 - 0,3 mV.

Die ERG-Höhe ändert sich in einem circadianen Rhythmus, wenn im Experiment Flickerlichtintensität und Temperatur konstantgehalten werden. Anfangs ist das ERG in der Nacht ca. doppelt so hoch wie am Tage. Fast immer verschiebt sich der circadiane Rhythmus gegen die Tageszeit, weil seine Periode meist nicht genau 24 h beträgt. Nach der in Kapitel 0 gegebenen Definition bezeichnet man den Zeitabschnitt mit dem höheren ERG als subjektive Nacht und den mit dem niedrigeren ERG als subjektiven Tag des Mehlkäfers. Bei 20 ^{o}C ist das ERG während der subjektiven Nacht in der Regel 2,5mal so hoch wie während des subjektiven Tages (Abb. 6).

Das ERG der subjektiven Nacht und des subjektiven Tages unterscheiden sich unter den Versuchsbedingungen nicht in ihrer Form. Ein Vergleich ist gut möglich, wenn die beiden Elektroretinogramme auf gleiche Höhe vergrößert und übereinander projiziert werden (Abb. 7).

In der Regel erreicht das ERG 1,0 bis 2,5 h nach Beginn der subjektiven Nacht seine maximale Höhe. Diese bleibt während der nächsten 3 - 12 h in etwa konstant oder fällt nur geringfügig ab. Anschließend sinkt die ERG-Höhe wieder auf das niedrige Niveau des subjektiven Tages (Abb. 8). Im Gegensatz zum circadianen Anstieg der ERG-Höhe, der fast immer steil verläuft und selten mehr als 2,5 h benötigt, ist der Abfall sehr

Abb. 5: ERG des Mehlkäferauges und Reizlicht. Mit einer Latenz von 105 ms zum Lichtimpuls bildet das ERG eine negative Zacke, der nach Ende des Lichtimpulses eine kleinere positve Zacke folgt. 1. Versuchstag 12 Uhr. 25 °C. Verstärker und Oszillograph in DC-Koppelung. Beleuchtungsstärke mit Photodetector UDT 500/UV registriert. Aufgenommen mit Polaroidkamera.

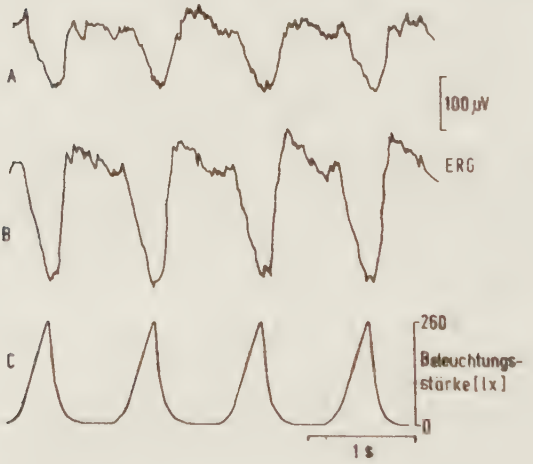

Abb. 6

Abb. 7

Abb. 6: Bei gleichbleibenden Reizlichtimpulsen und 20 °C ist das ERG von T. molitor während des subjektiven Tages (A: 8. Versuchstag 15.15 Uhr) halb so hoch wie während der subjektiven Nacht (B: 9. Versuchstag 3.15 Uhr). C: Beleuchtungsstärke der Reizlichtimpulse. Schnellschreiberregistrierungen. Aufzeichnungen von C und A bzw. B erfolgt nacheinander.

Abb. 7: Ein Vergleich zwischen dem ERG der subjektiven Nacht (durchgezogen) und des subjektiven Tages (gepunktet) zeigt keine wesentlichen Formunterschiede. Beide Elektroretinogramme sind auf gleiche Höhe vergrößert und übereinanderprojiziert.

variabel und dauert zwischen 1 bis 8 h. Manchmal beginnt das Absinken bereits im Anschluß an den Anstieg. Die ERG-Höhe nimmt dann während der gesamten subjektiven Nacht langsam ab (Abb. 9). Ihr Verlauf variiert nicht nur von Tier zu Tier, sondern ist oft auch von Zyklus zu Zyklus beim einzelnen Käfer unterschiedlich.

Der circadiane Zyklus kann an einzelnen Tagen zweigipfelig sein. Eine derartige Aufspaltung in zwei Komponenten findet sich bei 18 % (27 von 149) Mehlkäfern, die bei konstanter Temperatur untersucht werden. Sie erfolgt fast nur bei intern asynchronen Rhythmen oder wenn der Rhythmus auf dem anderen Auge fehlt. Bei gleichphasigen Rhythmen wird eine solche Aufspaltung nur in zwei Fällen beobachtet.

Bei 81 % (22 von 27) der Käfer ist der Rhythmus nur während eines Zyklus, bei 11 % (3 von 27) während 2 und bei 8 % während 3 bzw. 4 Zyklen zweigipfelig (Abb. 33), und zwar in der Regel nur auf einem Auge.

Der zweigipfelige Zyklus verläuft sehr variabel. Die beiden Gipfel können dicht aufeinanderfolgen. Dann nimmt während der subjektiven Nacht die ERG-Höhe vorübergehend ab. Die beiden Komponenten können auch weit auseinanderliegen. Im Extremfall befindet sich dann der zweite Gipfel in der Mitte des subjektiven Tages. Die Dauer der zweiten Komponente ist unterschiedlich. Sie liegt fast immer zwischen 2 h bis 7 h.

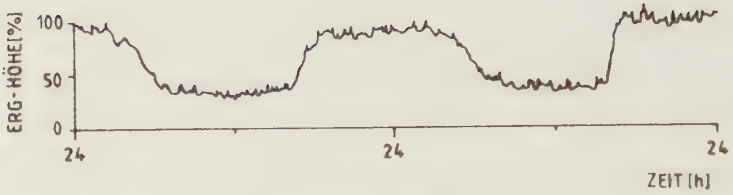

Abb. 8: Circadianer Rhythmus der ERG-Höhe bei gleichbleibenden Reizlichtimpulsen und 20 °C. Während der subjektiven Nacht behält das ERG seine Höhe über viele Stunden bei (häufig).

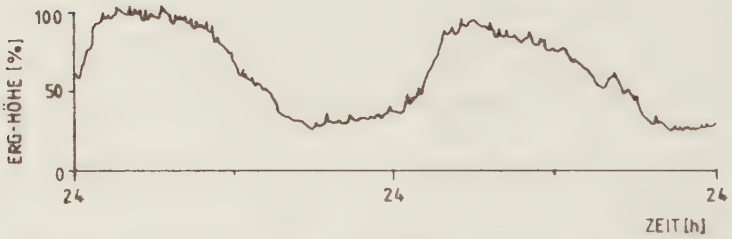

Abb. 9: Circadianer Rhythmus der ERG-Höhe bei gleichbleibenden Reizlichtimpulsen und 20 °C. Während der subjektiven Nacht wird das ERG am zweiten Tag ständig kleiner (selten).

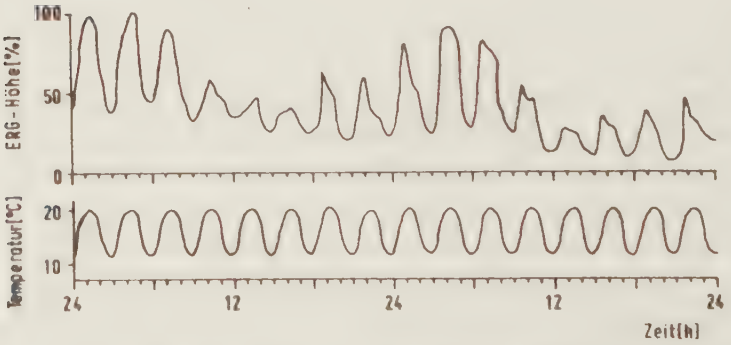

Abb. 10: Bei annähernd sinusförmigem Temperaturrhythmus (Periode: 3 h, Minimum: 11 °C, Maximum: 20 °C) ändert sich die ERG-Höhe im gleichen Rhythmus. Der circadiane Rhythmus bleibt erhalten und überlagert den temperaturabhängigen ERG-Rhythmus.

3.2 Die Temperaturabhängigkeit der ERG-Höhe

Die Temperatur beeinflußt das ERG des Mehlkäferauges. Hierzu zeigt Abb. 10 ein Experiment mit annähernd sinusförmigen Temperaturzyklen, die mit einer Periode von 3 h zwischen 11 °C und 20 °C schwanken. Das ERG ist bei 20 °C 2- bis 3mal höher als bei 11 °C. Der circadiane Rhythmus ist diesen 3-h-Zyklen überlagert. Wegen der sehr unterschiedlichen Perioden läßt sich hier die Auswirkung der Temperatur auf das Auge deutlich vom Einfluß des circadianen Oszillators unterscheiden. Bei Versuchen mit z. B. 24-h-Temperaturzyklen heben sich die beiden Komponenten nicht immer deutlich voneinander ab.

In weiteren Versuchsserien wird die Reaktion der ERG-Höhe auf Temperatursprünge eingehend untersucht. Experimente mit Temperaturwechsel zu Beginn oder Ende der subjektiven Nacht bleiben wegen der gleichzeitig erfolgenden circadianen Änderung der ERG-Höhe hierbei unberücksichtigt.

Nachdem sich die Käfer im Versuch ungefähr eine Woche an 20 °C oder 25 °C adaptiert haben, wird die Temperatur sprunghaft um 5 °C, 10 °C oder 15 °C geändert. Die sich dadurch ergebenden Änderungen der ERG-Höhe sind aus Abb. 11 zu ersehen. Als Bezugsgröße dient die relative ERG-Höhe von 100 % kurz vor Temperaturwechsel bei Adaptationstemperatur.

Die Kurven von Mehlkäfern mit und ohne Antennen unterscheiden sich signifikant nur bei 20-°C-adaptierten Tieren, und hier auch nur für 25 °C (zweiseitiger U-Test von Mann und Whitney, $P = 0{,}004$). Bei Käfern ohne Antennen beträgt dann die ERG-Höhe 119 % und bei Tieren mit Antennen 130 %.

Die Temperaturabhängigkeit der ERG-Höhe ist bei 20 °C und 25 °C adaptierten Mehlkäfern unterschiedlich. Bei 20-°C-adaptierten Käfern mit Antennen weist die Kurve ein scharf begrenztes Maximum von 30 °C mit einer relativen ERG-Höhe von 165 % auf. Dagegen hat sie bei 25-°C-adaptierten Tieren mit Antennen ein breites Maximum zwischen 25 °C und 35 °C, und

die relative ERG-Höhe beträgt bei 30 °C 105 %.

Der circadiane Rhythmus scheint die Temperaturabhängigkeit des Mehlkäferauges nicht zu beeinflussen. 25-°C-adaptierte Tiere mit Antennen haben bei 20 °C eine relative ERG-Höhe von 70 % (n = 4), wenn der Temperatursprung während der subjektiven Nacht erfolgt, von 78 % (n = 4), wenn der Wechsel während des subjektiven Tages stattfindet, und von 70 % (n = 4) bei Augen ohne circadianen Rhythmus. Der Unterschied zwischen den drei Gruppen ist nicht signifikant (H-Test von Kruskal und Wallis, P > 0,1).

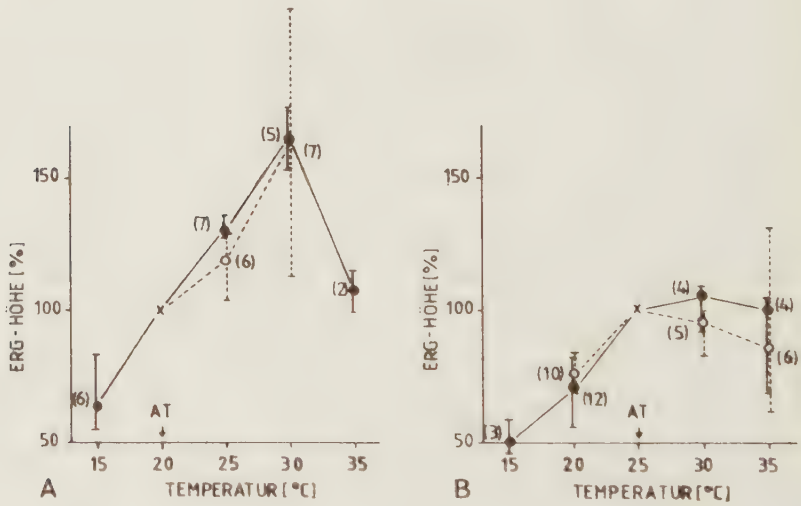

Abb. 11: Temperaturabhängigkeit der ERG-Höhe von T. molitor. A: Nach ca. 1 Woche Adaptation bei 20 °C. B: Nach ca. 1 Woche Adaptation bei 25 °C. Kurz vor Temperaturwechsel beträgt die ERG-Höhe bei Adaptationstemperatur (AT) 100%. —●— : Käfer mit Antennen.--o-- : Käfer ohne Antennen. Median von (n) Meßwerten mit Variationsbreite.

3.3 Der Einfluß niedriger Temperatur auf den circadianen Rhythmus

3.3.1 Der Einfluß von 7 °C und 8 °C auf den circadianen Rhythmus

11 Mehlkäfer werden nach 2 d bei 20 °C oder 7 d bei 25 °C für 48 h einer Temperatur von 8 °C bzw. 7 °C ausgesetzt. Während der niedrigen Temperatur ist das ERG 2- bis 10mal niedriger als zuvor, und ein circadianer Rhythmus fehlt.

Nach 48 h wird die Temperatur auf 20 °C erhöht. Ungefähr gleichzeitig damit beginnt bei allen Käfern die subjektive Nacht, obgleich die Temperatur bei den einzelnen Käfern während unterschiedlicher Phasen des circadianen Rhythmus gesenkt wurde (Abb. 12). Das ERG der Tiere, für die vorher 8 °C herrschte, steigt zunächst auf die Höhe, die vor dem 48-h-Intervall während des subjektiven Tages gemessen wurde. 2,2 - 4,5 h nach Beginn der Temperaturerhöhung setzt mit einem zweiten Anstieg der ERG-Höhe die subjektive Nacht ein. Für die bei 7 °C gehaltenen Tiere beginnt die subjektive Nacht gleichzeitig mit dem Temperaturanstieg. Dementsprechend steigt das ERG nur einmal an und wird hierbei so hoch wie bei den anderen Käfern erst nach dem zweiten Anstieg. Da die subjektive Nacht nach 12,8 - 16,2 h endet, kann man sicher sein, daß sie ungefähr gleichzeitig mit dem Temperaturanstieg und nicht schon wesentlich früher begonnen hat.

Käfer mit zunächst intern asynchronen circadianen Rhythmen haben nach 48 h niedriger Temperatur auf beiden Augen gleichphasige circadiane Rhythmen (Abb. 12 A - D, J). Nach der Temperaturerhöhung wird der Versuch meist noch für 3 d fortgesetzt. Die gleichphasig gewordenen circadianen Rhythmen verschieben sich während dieser Zeit nicht erneut gegeneinander.

Abb. 12: Arretierung des circadianen ERG-Rhythmus durch Absenkung der Temperatur auf 7 °C bzw. 8 °C für 48 h. Unabhängig von der circadianen Zeit, zu der die Temperaturerniedrigung einsetzt, beginnt die subjektive Nacht gleichzeitig mit oder kurz nach der Temperaturerhöhung. Intern asynchrone Rhythmen werden durch die niedrige Temperatur gleichphasig. A - E: Beginn der subjektiven Nacht von 5 Mehlkäfern bei 25 °C → 48 h 7 °C → 20 °C. F - K: Beginn der subjektiven Nacht von 6 Mehlkäfern bei 20 °C → 48 h 8 °C → 20 °C. ↑ kennzeichnet den Beginn der subjektiven Nacht, wenn die Rhythmen beider Augen gleichphasig sind. ↑ und ↾ markieren den Beginn der subjektiven Nacht für beide Augen bei interner Phasenwinkeldifferenz. Die Pfeile sind gepunktet, wenn sich der Beginn der subjektiven Nacht bei gleichzeitigem Temperaturwechsel nur vermuten läßt. Die circadiane Zeit, zu der die Temperaturabsenkung beginnt, ist für jeden Käfer angegeben.

3.3.2 Der Einfluß von 10 °C und 11 °C auf den circadianen Rhythmus

3 Mehlkäfer werden 6 d bei 10 °C untersucht. Während dieser Zeit fehlt ihnen der circadiane Rhythmus, obwohl er an den beiden vorhergehenden Tagen bei 20 °C vorhanden war. Die Temperaturverringerung beginnt bei allen 3 Käfern kurz vor Ende des subjektiven Tages und verkleinert die ERG-Höhe auf etwa die Hälfte. Nach den 6 Tagen wird die Temperatur wieder auf 20 °C erhöht. Dabei steigt die ERG-Höhe auf etwa das 3fache. Rund 7 h später beginnt bei den Käfern mit einem zweiten Anstieg die subjektive Nacht. Bei 20 °C ist der circadiane Rhythmus wieder vorhanden.

2 Mehlkäfer werden 8 d bei 11 °C beobachtet, nachdem sie zuvor 6 d bei einem (12 h : 12 h / 20 °C : 11 °C)-Rhythmus untersucht worden sind. An den ersten 3 - 4 d bei 11 °C ist die ERG-Höhe in etwa konstant. Dann bildet sich ein circadianer Rhythmus mit sehr unregelmäßiger Periode von 19 h bis 26 h aus. Im Anschluß an die 8 d 11 °C steigt die Temperatur auf 20 °C. Das ERG wird 3- bis 4fach größer. Bei einem Tier beginnt die subjektive Nacht 5,5 h nach der Temperaturerhöhung, während bei dem anderen der circadiane Rhythmus ausbleibt.

3.4 Der circadiane Rhythmus unter konstanten Temperaturbedingungen von 15 °C bis 30 °C

3.4.1 Statistischer Überblick

Unter konstanten Temperaturbedingungen werden 91 (53 ♀♀ + 38 ♂♂) Mehlkäfer mit Antennen für meist 7 - 14 d untersucht, und zwar 26 Käfer (15 ♀♀ + 11 ♂♂) bei 15 °C, 35 (19 ♀♀ + 16 ♂♂) bei 20 °C, 24 (13 ♀♀ + 11 ♂♂) bei 25 °C und 6 ♀♀ bei 30 °C. Die Spitzenbeleuchtungsstärke der Reizlichtimpulse ist während der Experimente konstant und beträgt in der Regel 160 lx.

Nur ein Teil der Mehlkäfer hat auf beiden Kompexaugen intern gleichphasige circadiane Rhythmen. Die Rhythmen mancher Käfer sind intern verschiedenphasig. Wie in Kap. 3.9 noch ausführlich dargestellt wird, haben die Käfer dabei überwiegend intern asynchrone Rhythmen. Eine von 0° verschiedene konstante interne Phasenwinkeldifferenz während des gesamten Versuches ist dagegen nur selten zu beobachten. Einigen Käfern fehlt der circadiane Rhythmus sporadisch an ein oder einigen Tagen auf einem oder beiden Augen und anderen völlig auf einem oder beiden Augen. Wieviele Käfer das jeweilige Verhalten bei den einzelnen Temperaturstufen aufweisen, ist aus der Abb. 13 zu ersehen.

30,8 % aller 91 Käfer haben immer vorhandene, intern verschiedenphasige circadiane Rhythmen, 9,9 % sporadisch fehlende, intern gleichphasige Rhythmen, und 12,1 % fehlt der circadiane Rhythmus auf einem Auge. Im Gegensatz zu diesen drei Gruppen ist bei den drei folgenden eine deutliche Temperaturabhängigkeit zu beobachten.

Käfer mit dauernden, intern gleichphasigen circadianen Rhythmen sind um so häufiger, je höher die Versuchstemperatur ist. Bei 15 °C beträgt der Anteil 3,8 % (1 von 26), bei 20 °C 14,3 % (5 von 35), bei 25 °C 37,5 % (9 von 24) und bei 30 °C 66,7 % (4 von 6) (Abb. 13 A).

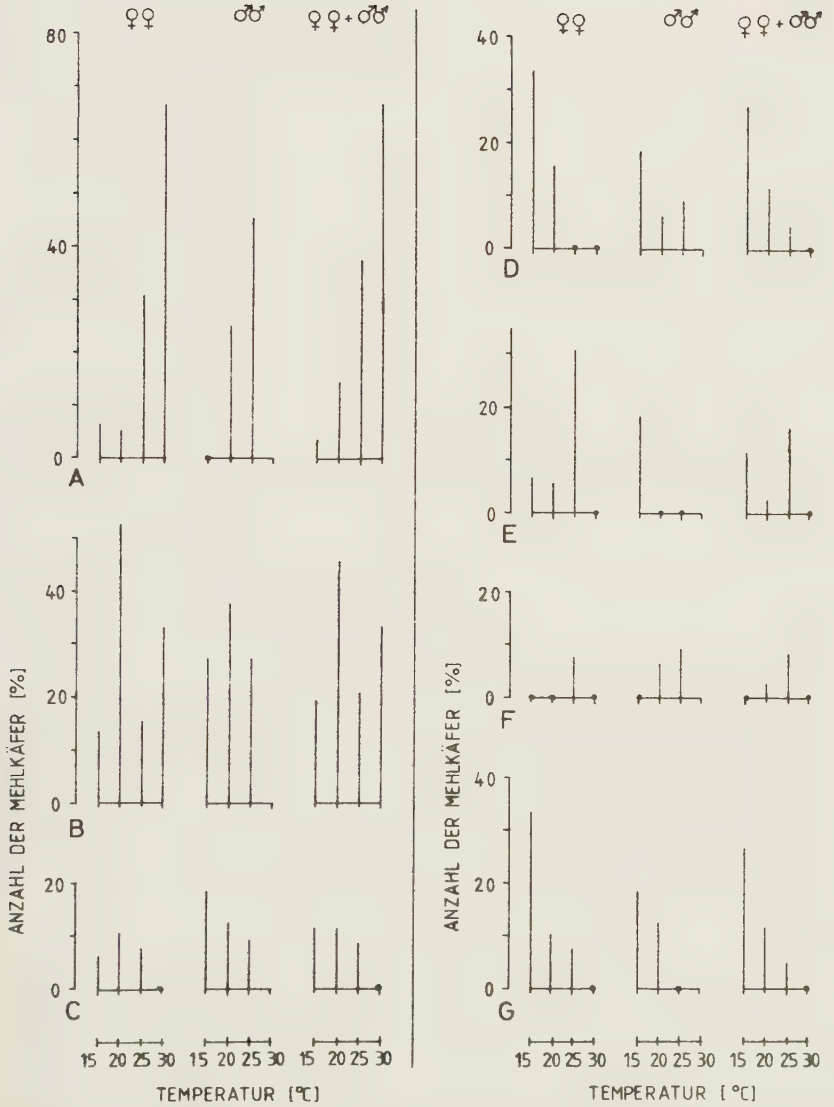

Abb. 13: Circadiane ERG-Rhythmen bei verschiedenen konstanten Temperaturen: Prozentualer Anteil von 91 Käfern an den Gruppen A - G bei 15 °C, 20 °C, 25 °C und 30 °C.
A: immer vorhandene, intern gleichphasige circadiane Rhythmen.
B: immer vorhandene, intern verschiedenphasige circadiane Rhythmen.
C: sporadisch fehlende, intern gleichphasige circadiane Rhythmen.
D: sporadisch fehlende, intern verschiedenphasige Rhythmen.
E: circadianer Rhythmus fehlt auf einem Auge und ist auf dem anderen immer vorhanden.
F: Rhythmus fehlt auf einem Auge und auf dem anderen sporadisch.
G: circadiane Rhythmen fehlen beidseitig.

Der Anteil der Käfer, denen der circadiane Rhythmus auf beiden Augen immer fehlt, sinkt mit zunehmender konstanter Versuchstemperatur. Bei 15 °C beträgt die Häufigkeit 26,9 %, bei 20 °C 11,4 %, bei 25 °C 4,2 % und bei 30 °C 0 % (Abb. 13 G).

Käfer mit sporadisch fehlenden, intern verschiedenphasigen circadianen Rhythmen sind ebenfalls um so seltener, je höher die Versuchstemperatur ist. Bei 15 °C beträgt die Häufigkeit 26,9 %, bei 20 °C 11,4 %, bei 25 °C 4,2 % und bei 30 °C 0 % (Abb. 13 D).

Insgesamt haben von den 91 Käfern 20,9 % dauernde, intern gleichphasige Rhythmen und 13,2 % sporadisch fehlende, intern verschiedenphasige circadiane Rhythmen. 13,2 % fehlen die circadianen Rhythmen dauernd auf beiden Augen.

Manche Käfer werden bei zwei konstanten Temperaturstufen untersucht, z. B. 1 Woche bei 15 °C und anschließend 1 Woche bei 25 °C. In einem solchen Fall ist im vorhergehenden die erste Temperaturstufe ausschlaggebend. Fehlt also im angeführten Beispiel in der ersten Woche bei 15 °C der circadiane Rhythmus auf beiden Augen, und ist er in der zweiten Woche bei 25 °C vorhanden, dann wird der Käfer in der Abb. 13 nur unter "15 °C" und "circadianer Rhythmus fehlt beidseitig" aufgeführt.

3.4.2 Intern gleichphasige circadiane Rhythmen bei konstanter Temperatur

Mit einer dreifaktoriellen Varianzanalyse wird untersucht, welchen Einfluß die drei Faktoren Temperatur (20 °C, 25 °C), Antennen (ohne, mit) und Geschlecht (Weibchen, Männchen) auf die vier Variablen Periode, Länge des subjektiven Tages, Länge der subjektiven Nacht und Verhältnis von subjektiver Nacht zu subjektivem Tag haben. Die Auswertung erfolgt an insgesamt 24 weiblichen und männlichen Mehlkäfern mit intern gleichphasigen circadianen Rhythmen. Die Käfer werden entweder bei 20 °C oder 25 °C konstanter Temperatur untersucht. Antennen sind entweder vorhanden oder vor Versuchsbeginn operativ entfernt. Je Tier wird von 4 aufeinanderfolgenden Perioden das arithmetische Mittel gebildet, und zwar jeweils 1 - 2 Tage nach Versuchsbeginn bzw. nach einem Temperatursprung. Abb. 14 zeigt die Mittelwerte für die verschiedenen Gruppen und Tabelle 1 die Ergebnisse der Varianzanalysen.

Bei der Periode ist kein Effekt signifikant. Die mittlere Periode bei den Mehlkäfern dauert 24,7 h (Käfer mit Antennen: Q_{10} = 1,0, Käfer ohne Antennen: Q_{10} = 0,9).

Bei der subjektiven Nacht ist der Haupteffekt Temperatur signifikant (P = 0,009). Der Haupteffekt Antennen erreicht fast Signifikanz (P = 0,052). Die subjektive Nacht dauert im Mittel 13,1 h (Käfer mit Antennen: Q_{10} = 0,9, Käfer ohne Antennen: Q_{10} = 0,8).

Beim subjektiven Tag ist nur der Haupteffekt Antennen signifikant (P = 0,042). Der subjektive Tag dauert im Mittel 11,6 h (Käfer mit Antennen: Q_{10} = 1,1, Käfer ohne Antennen: Q_{10} = 1,2).

Bei dem Verhältnis subjektive Nacht zu subjektivem Tag ist der Haupteffekt Temperatur signifikant (P = 0,039). Der Haupteffekt Antennen ist fast signifikant (P = 0,055). Das Verhältnis beträgt im Durchschnitt 1,1 (Käfer mit Antennen: Q_{10} = 0,8, Käfer ohne Antennen Q_{10} = 0,6).

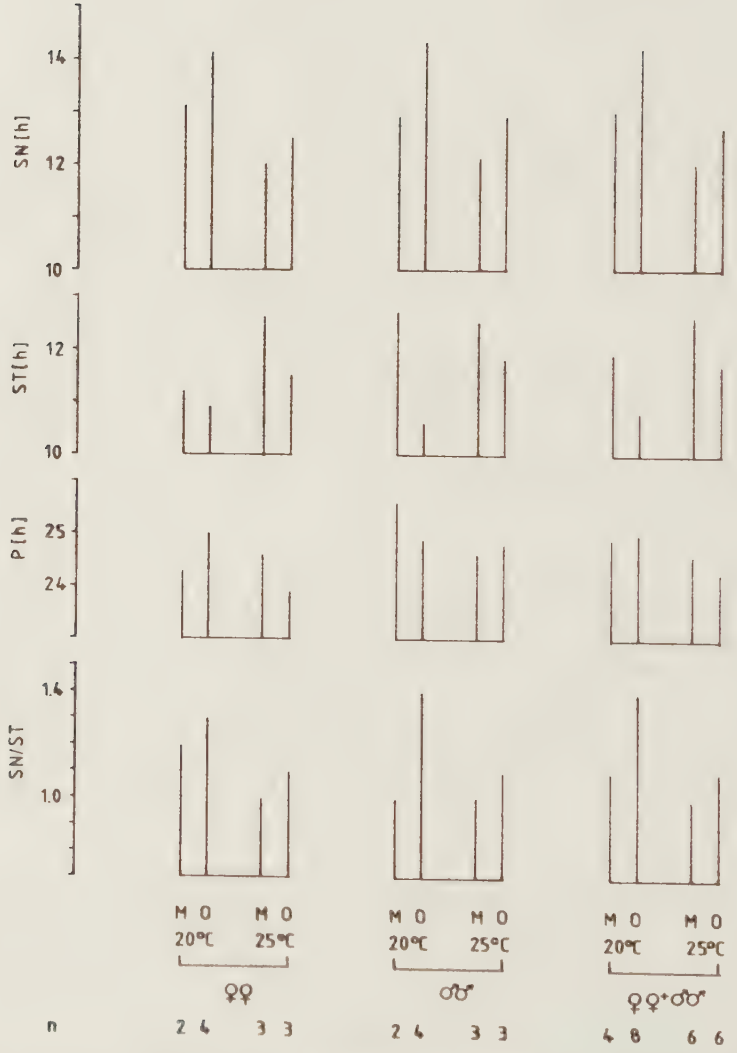

Abb. 14: Der Einfluß von Geschlecht (♀♀, ♂♂), Temperatur (20 °C, 25 °C) und Antennen (mit: M, ohne: O) auf die Dauer der subjektiven Nacht (SN), die Dauer des subjektiven Tages (ST), die Periode (P) und das SN/ST-Verhältnis. n: Anzahl der Versuchstiere.

Tabelle 1: Varianzanalyse der drei Faktoren Geschlecht (Weibchen, Männchen), Temperatur (20 °C, 25 °C) und Antennen (mit, ohne) bei 24 Käfern mit intern gleichphasigen Rhythmen (FG: Freiheitsgrade, MQ: mittlere Quadrate, F: Prüfgröße für F-Test, P: Irrtumswahrscheinlichkeit).

A: Varianzanalyse für die Periode

Quelle	FG	MQ	F	P
Geschlecht (G)	1	1,000	2,355	0,141
Temperatur (T)	1	1,448	3,409	0,080
Antennen (A)	1	0,093	0,220	0,999
G x T	1	0,005	0,011	0,999
G x A	1	0,077	0,181	0,999
T x A	1	0,118	0,279	0,999
G x T x A	1	1,606	3,781	0,067
Residual	16	0,425		

B: Varianzanalyse für die Dauer der subjektiven Nacht

Quelle	FG	MQ	F	P
G	1	0,160	0,149	0,999
T	1	9,573	8,911	0,009
A	1	4,635	4,315	0,052
G x T	1	0,138	0,128	0,999
G x A	1	0,182	0,170	0,999
T x A	1	0,440	0,410	0,999
G x T x A	1	0,001	0,001	0,999
Residual	16	1,074		

C: Varianzanalyse für die Dauer des subjektiven Tages

Quelle	FG	MQ	F	P
G	1	0,360	0,286	0,999
T	1	3,574	2,842	0,108
A	1	6,044	4,806	0,042
G x T	1	0,092	0,073	0,999
G x A	1	0,496	0,395	0,999
T x A	1	0,102	0,081	0,999
G x T x A	1	1,689	1,343	0,263
Residual	16	1,257		

D: Varianzanalyse für das Verhältnis subj. Nacht zu subj. Tag

Quelle	FG	MQ	F	P
G	1	0,000	0,000	0,999
T	1	0,243	4,960	0,039
A	1	0,205	4,177	0,055
G x T	1	0,001	0,015	0,999
G x A	1	0,014	0,292	0,999
T x A	1	0,023	0,477	0,999
G x T x A	1	0,021	0,422	0,999
Residual	16	0,049		

3.5 Der circadiane Rhythmus unter Einfluß tagesperiodisch alternierender Temperaturen

In Experimenten mit tagesperiodisch alternierenden Temperatureinflüssen werden die Mehlkäfer ungefähr rechteckförmigen Temperaturzyklen ausgesetzt, die durch die Kurzformel (Z1 : Z2 / T1 : T2) beschrieben werden. Hierbei alterniert Zeitintervall Z1 bei Temperatur T1 mit Zeitintervall Z2 bei Temperatur T2. Z. B. entspricht (12 h : 12 h / 20 °C : 25 °C) einem 24-h-Rhythmus, bei dem 12 h 20 °C und 12 h 25 °C einander ständig ablösen. Der Wechsel von einer zur anderen Temperatur dauert ca. 45 min pro 5 °C.

3.5.1 (12 h : 12 h / 11 °C : 20 °C)-Rhythmen

Der Einfluß von (12 h : 12 h / 11 °C : 20 °C)-Zyklen auf die circadiane ERG-Periodik wird für 6 - 7 d an 8 Mehlkäfern untersucht. Zuvor wird die ERG-Höhe von 6 Tieren für 6 d und danach für 3 d bei 20 °C registriert. Die Versuche an den beiden anderen Käfern beginnen sofort mit dem Einsetzen der Temperaturzyklen, werden 8 d bei 11 °C und sodann 3 d bei 20 °C fortgesetzt. Bei 4 Tieren wird das ERG von beiden Augen abgeleitet.

Die erste Temperaturabsenkung beginnt kurz vor (Phasenwinkel 300° - 360°) oder nach (Phasenwinkel 0° - 30°) Anfang der subjektiven Nacht. Sofort vom ersten Temperaturzyklus an steigt und fällt die ERG-Höhe gleichzeitig mit der Temperatur. Sie ändert sich dabei im Laufe von ca. 1 h und nicht allmählich wie nur unter circadianem Einfluß, bei dem vor allem die Abnahme sich meist über viele Stunden hinzieht.

Die Amplitudenänderungen weisen recht erhebliche individuelle Unterschiede auf. Bei einem Käfer verändert sich die ERG-Höhe bei Temperaturwechsel im Durchschnitt um das 4,9fache (Abb. 15), bei 3 weiteren um das 2,3 - 3,0fache und bei den übrigen 4 Käfern nur um das 1,5 - 1,8fache (Abb. 16).

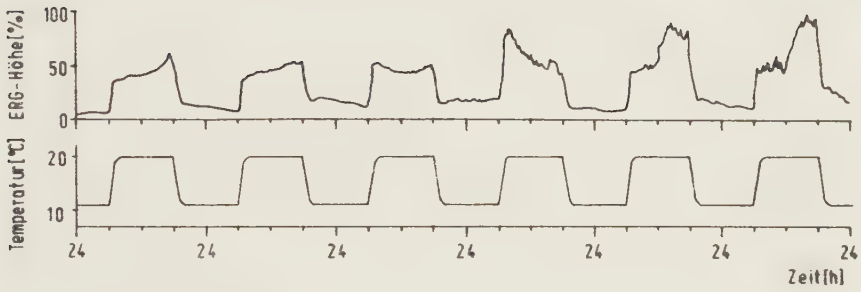

Abb. 15: Die ERG-Höhe bei (12 h : 12 h / 11 °C : 20 °C)-Zyklen. Die ERG-Höhe steigt steil an, wenn ein Temperatursprung auf 20 °C erfolgt, und wird niedriger, sobald die Temperatur wieder auf 11 °C absinkt. Eine zweite Komponente ist überlagert: Die ERG-Höhe wird am 4. Tag nach einem zunächst besonders starken Anstieg schon gegen 10 h wieder niedriger und steigt an den beiden folgenden Tagen gegen 12 h nach einem zunächst beim Temperaturwechsel üblichen Anstieg nochmals weiter an.

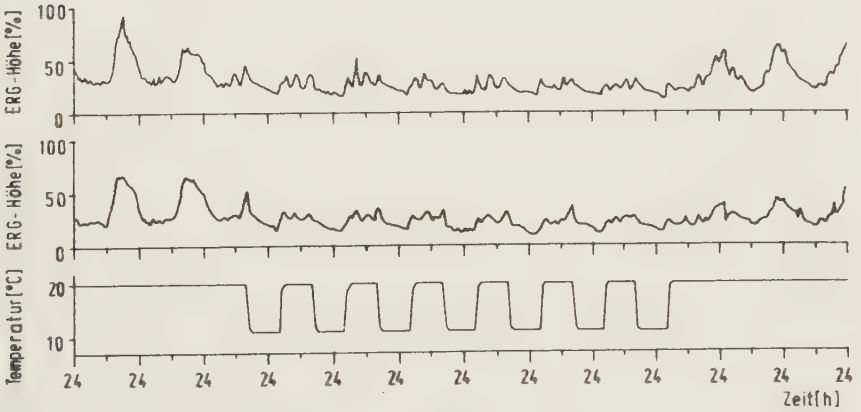

Abb. 16: Während des (12 h : 12 h / 11 °C : 20 °C)-Rhythmus weist die ERG-Höhe nur einen schwachen tagesperiodischen Rhythmus auf. Zuvor und danach ist bei 20 °C konstanter Temperatur ein deutlich ausgeprägter circadianer Rhythmus vorhanden. Oben und Mitte: ERG-Höhe der beiden Augen. Unten: Temperaturrhythmus.

Die Änderung der ERG-Höhe bei (12 h : 12 h / 11 °C : 20 °C) -Rhythmen sind überwiegend durch die Temperaturempfindlichkeit des Auges bedingt. Im Vergleich dazu ist der circadiane Einfluß meist gering. Es gibt jedoch Anhaltspunkte dafür, daß in der Regel der subjektive Tag synchron zum 20-°C-Intervall ist. So besitzt das ERG während des 20-°C-Intervalls annähernd die gleiche Höhe wie am subjektiven Tag bei 20 °C konstanter Temperatur (Abb. 16). Gelegentlich beginnt die subjektive Nacht auch schon kurz vor Wechsel nach 11 °C. Dieses ist am vorübergehenden Anstieg der ERG-Amplitude zu erkennen. Vor allem aber beginnt die subjektive Nacht nach den Temperaturzyklen bei konstanter Temperatur von 20 °C etwa zur gleichen Uhrzeit, bei der an den vorhergehenden Tagen das 11-°C-Intervall einsetzte.

Bei zwei Käfern treten allerdings während der Temperaturzyklen auch ohne Temperaturwechsel zusätzliche Änderungen in der ERG-Höhe auf. Ihre Lage kann sich von Tag zu Tag abrupt verschieben. So zeigt Abb. 15 einen Versuch, bei dem die ERG -Höhe am vierten Tag mitten während des 20-°C-Intervalls absinkt, während sie an den beiden darauffolgenden Tagen zur gleichen Zeit ansteigt. Diese Schwankungen haben vermutlich circadianen Ursprung.

Nur bei einem der beiden Käfer wird das ERG von beiden Augen abgeleitet. Während der Temperaturzyklen tritt bei diesem Tier interne Asynchronie auf. Ihm fehlt darüberhinaus an einigen der Tagen vor und nach den Temperaturzyklen auf einem Auge der circadiane Rhythmus. Die Rhythmen der übrigen drei Käfer mit beidseitiger Ableitung sind sowohl vor als auch, soweit sich dies beurteilen läßt, während der Temperaturzyklen intern synchron.

Nach den Temperaturschwankungen fehlt bei konstanter Temperatur von 20 °C 2 Käfern der circadiane Rhythmus völlig. Bei einem dieser Käfer ist auch schon vor den Temperaturzyklen vorübergehend kein circadianer Rhythmus vorhanden.

3.5.2 (12 h : 12 h / 15 °C : 20 °C)-Rhythmen

Die Auswirkungen von (12 h : 12 h / 15 °C : 20 °C)-Zyklen auf den circadianen Rhythmus werden für 8 - 12 d bei 10 Mehlkäfern in Anschluß an 3 - 4 d bei 20 °C untersucht. Dabei wird das ERG bei allen Käfern nur von einem der beiden Komplexaugen abgeleitet.

Abgesehen von einer Ausnahme, auf die erst am Ende dieses Kapitels eingegangen wird, tritt nach spätestens zwei Tagen Synchronisation ein. Hierbei liegt die subjektive Nacht während des 15-°C-Intervalls. Der Beginn der subjektiven Nacht koinzidiert allerdings nicht immer genau mit der Temperaturabsenkung, sondern setzt manchmal schon 1 - 2 h früher ein.

Der erste Temperaturabfall beginnt bei 6 Mehlkäfern im ersten Drittel der subjektiven Nacht (Phasenwinkel: 0° - 60°) und bei 3 Käfern am subjektiven Tag (Phasenwinkel: 250°, 270°, 320°). Erfolgt der erste Temperaturabfall zwischen Phasenwinkel 0° - 60°, so wird der synchrone Zustand durch eine geringfügige Verlängerung oder Verkürzung der Periode erreicht. Bei dem Versuchstier mit einer externen Phasenwinkeldifferenz von 320° zu Beginn der Temperaturzyklen erfährt der circadiane Rhythmus in den beiden ersten Tagen ebenfalls nur eine geringe Phasenverschiebung und ist dann synchron. In den beiden Fällen mit Phasenwinkeln von 250° und 270° verkürzt die erste Temperaturabsenkung die Periode sehr stark (7,4 h und 6,5 h), so daß eine sofortige Synchronisation erzielt wird.

Die Temperaturänderungen synchronisieren nicht nur den circadianen Oszillator, sondern beeinflussen auch das Auge direkt. Bei 4 Käfern ist der unmittelbare Einfluß nur schwach. Das ERG dieser Tiere steigt beim Wechsel nach 20 °C geringfügig an und sinkt beim Übergang nach 15 °C nur wenig ab. Der von der Temperatur synchronisierte circadiane Rhythmus bleibt deutlich zu erkennen (Abb. 17). Die Augen der 5 anderen Käfer reagieren wesentlich temperaturempfindlicher. Bei ihnen dämpft die auf 15 °C abfallende Temperatur merklich den gleichzeitigen circadianen Anstieg der ERG-Höhe, und umgekehrt verringert der Wechsel nach 20 °C den circadian bedingten Abfall der

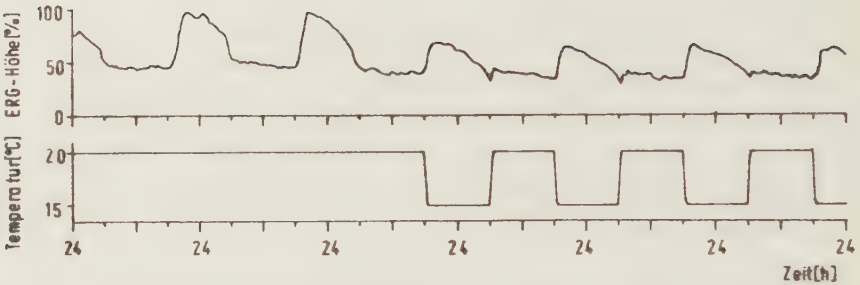

Abb. 17: Externe Synchronisation des circadianen ERG-Rhythmus durch (12 h : 12 h / 15 °C : 20 °C)-Zyklen bei T. molitor. Die subjektive Nacht während des niedrigen Temperaturintervalls ist deutlich zu erkennen.

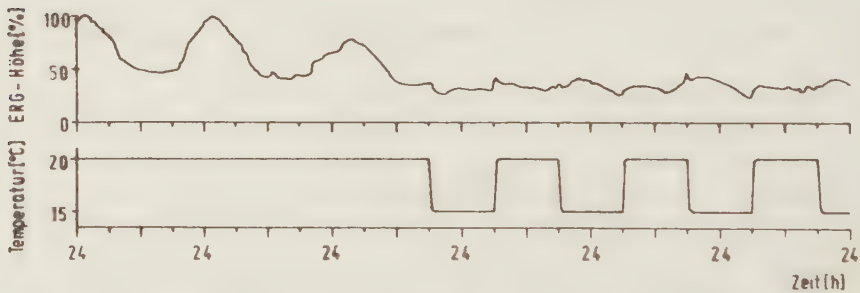

Abb. 18: Externe Synchronisation des circadianen ERG-Rhythmus durch (12 h : 12 h / 15 °C : 20 °C)-Zyklen bei T. molitor. Die gleichzeitig mit 15 °C beginnende subjektive Nacht ist kaum erkennbar, weil der circadian bedingte Anstieg der ERG-Höhe infolge der Temperaturabsenkung annähernd kompensiert wird.

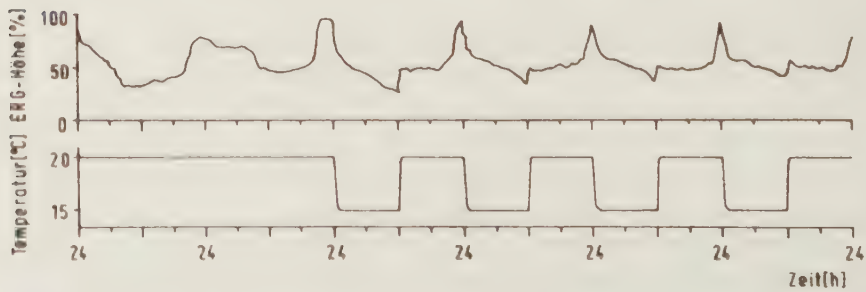

Abb. 19: Externe Synchronisation des circadianen ERG-Rhythmus durch (12 h : 12 h / 15 °C : 20 °C)-Zyklen bei T. molitor. Der circadian bedingte Anstieg der ERG-Höhe beginnt schon ca. 1 h vor Wechsel nach 15 °C. Bei der Temperaturherabsetzung sinkt das ERG sofort stark ab.

ERG-Amplitude. Da Temperatur und circadianer Rhythmus das ERG antagonistisch beeinflussen, bleibt dessen Höhe annähernd gleich und weist infolge der beiden gegensätzlichen Einflüsse nur eine leichte Welligkeit mit einer Periode von 12 h auf (Abb. 18). Manchmal beginnt die subjektive Nacht schon 1 - 2 h vor den Temperaturabfall. Dann ist das ERG für 2 - 3 h hoch und sinkt bei 15 °C sofort wieder ab (Abb. 19).

Bei einem der Mehlkäfer zeigt der circadiane Rhythmus eine völlig andere Phasenbeziehung zum Temperaturzyklus als bei den übrigen 9 Versuchstieren. Die erste Temperaturverringerung setzt bei Phasenwinkel 15° ein. In den nachfolgenden 5 d tritt keine Synchronisation ein. Vielmehr verschiebt sich zunächst der circadiane Rhythmus gegenüber dem Temperaturrhythmus mit einer durchschnittlich länger als 24 h dauernden Periode. Anschließend, an den letzten 3 Versuchstagen, beträgt die Periode ca. 24 h. Die subjektive Nacht beginnt dabei 3 h vor Wechsel nach 20 °C. Hier liegt möglicherweise Synchronisation vor, die gegenüber den übrigen Käfern um fast 180° phasenverschoben ist. Der unmittelbare Temperatureinfluß auf das Komplexauge ist deutlich vorhanden und kann gut vom phasenverschobenen circadianen Rhythmus unterschieden werden.

Bei 4 Mehlkäfern wird der Temperaturzyklus nach 8 d durch einmalige Verlängerung des 15 °C-Intervalls um 6 h verschoben und dann für weitere 4 d fortgesetzt. Unter diesen Tieren befindet sich auch der vermutlich in Antiphase synchronisierte Käfer. Seine Periode verkürzt sich nach der Phasenverschiebung des Temperaturzyklus für eine Schwingung auf 20,5 h, so daß die subjektive Nacht gleichzeitig mit dem 15-°C-Intervall beginnt. Während der folgenden 3 d bleibt die neue externe Phasenbeziehung bestehen. Aus Synchronisation in Antiphase ist somit Synchronisation in Phase geworden. Die 3 in Phase synchronisierten Käfer folgen mit zeitlicher Verzögerung der Verschiebung durch Verlängerung der Periode. Einer hat am Schluß der Temperaturzyklen die neue Phasenlage erreicht. Bei den beiden anderen liegt nach dieser Zeit der Beginn der subjektiven Nacht noch 3 - 4 h vor dem 15-°C-Intervall.

Im Anschluß an die 4 d mit phasenverschobenen Temperaturzyklen beginnt bei konstanter Temperatur von 20 °C die subjektive Nacht aller 4 Käfer ungefähr zu dem Zeitpunkt, an dem während der 4 vorhergehenden Tage das 15-°C-Intervall einsetzt.

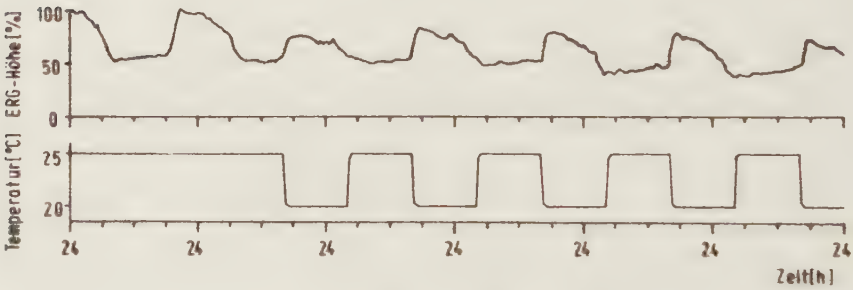

Abb. 20: (12 h : 12 h / 20 °C : 25 °C)-Zyklen synchronisieren den circadianen ERG-Rhythmus.

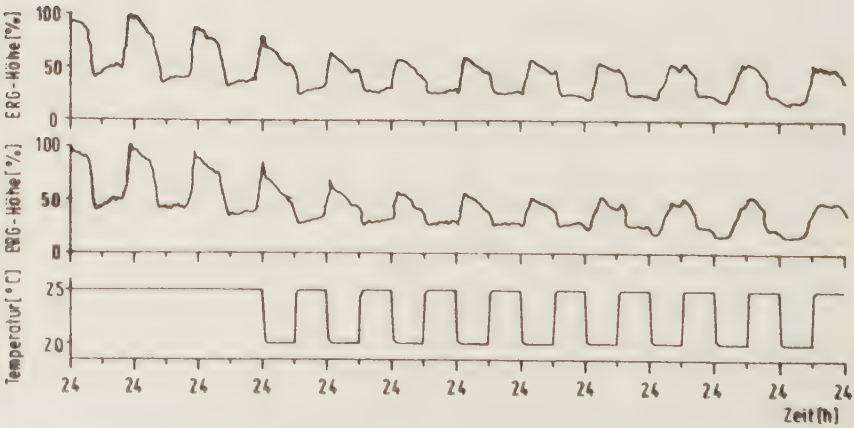

Abb. 21: (12 h : 12 h / 20 °C : 25 °C)-Zyklen (unten) synchronisieren die circadianen ERG-Rhythmen der beiden Augen (oben und Mitte) nicht.

3.5.3 (12 h : 12 h / 20 °C : 25 °C)-Rhythmen

24 Tenebrio molitor werden nach 2 - 3 d gleichbleibender Temperatur von 25 °C für 6 - 12 d bei (12 h : 12 h / 20 °C : 25 °C) -Rhythmen untersucht. Die erste Absenkung der Temperatur beginnt bei den einzelnen Käfern zu unterschiedlichen circadianen Zeiten, so daß sämtliche Abschnitte des circadianen Zyklus erfaßt sind. Das ERG wird bei 20 Tieren beidseitig und bei 4 nur von einem Auge abgeleitet.

Der circadiane Rhythmus verschiebt sich mit einer Periode von ca. 25 h gegen den Temperaturrhythmus. Bei 6 Käfern enden diese Verschiebungen, sobald der Beginn der subjektiven Nacht mit dem Zeitpunkt der Temperaturherabsetzung koinzidiert, die externe Phasenwinkeldifferenz also gleich 0° ist. Von da an bleiben die circadianen Rhythmen dieser Tiere synchron mit den Temperaturzyklen (Abb. 20).

Bis zum Erreichen der externen Synchronisation können 8 d vergehen, da keine starken Phasenverschiebungen auftreten. Möglicherweise benötigen einige Tiere noch längere Zeit. Hierüber liegen aber keine Beobachtungen vor, weil die Temperaturzyklen nach 6 - 12 d beendet werden.

Bei 4 anderen Mehlkäfern, die ebenfalls eine externe Phasenwinkeldifferenz von 0° erreichen, erfolgt keine Synchronisation. Vielmehr wird die externe Phasenwinkeldifferenz in den darauffolgenden Zyklen wieder größer (Abb. 21).

Bei 3 Mehlkäfern verhalten sich die Rhythmen der beiden Komplexaugen unterschiedlich. Der circadiane Rhythmus eines Auges wird bei einer externen Phasenwinkeldifferenz von 0° synchron zum Temperaturrhythmus, während er sich bei dem anderen mit einer größeren Periode als 24 h weiter gegen den Temperaturrhythmus verschiebt (Abb. 22). Die externe Synchronisation erfolgt bei 2 dieser Käfer auf dem rechten und bei dem anderen auf dem linken Auge. Zuvor ist die interne Phasenwinkeldifferenz mit meist 6° - 25° gering. Sie wird aber ständig größer, so-

bald die einseitige Synchronisation eingetreten ist. Dabei können sich die beiden circadianen Rhythmen sehr schnell gegeneinander verschieben. So wird bei einem Tier nach 6 Zyklen zu Versuchsende eine interne Phasenwinkeldifferenz von 310° erreicht. Die interne Phasenwinkeldifferenz der beiden anderen Käfer beträgt zu Versuchsende 180° und 230°.

Die einseitige Temperatursynchronie ist jedoch nicht von Dauer, sondern endet nach 4 - 7 Zyklen. Der circadiane Rhythmus verschiebt sich dann wieder gegen den Temperaturrhythmus. Hierbei treten bei 2 Tieren kürzere und bei einem längere Perioden als 24 h auf. Allerdings wird die erneut einsetzende Verschiebung der externen Phasenwinkeldifferenz nur im Anfangsstadium beobachtet, weil die Versuche bei allen 3 Tieren 2 - 3 d später enden.

Die externe Phasenwinkeldifferenz des circadianen Rhythmus eines weiteren Mehlkäfers beträgt während eines 7tägigen Experimentes mit Temperaturzyklen ca. 180° - 200° (Abb. 23). Hier besteht vermutlich Synchronisation in Antiphase. Jedoch ist dieses Phänomen nur selten. 8 andere Käfer erreichen während des Versuchs ebenfalls eine Phasenwinkeldifferenz von 180°, ohne daß Mitnahme eintritt.

Die circadianen Rhythmen der übrigen Mehlkäfer werden nicht synchron zum Temperaturrhythmus. Sie erreichen eine externe Phasenwinkeldifferenz von 0° oder 180° während des Versuches nicht oder erst kurz vor Versuchsende. Hier bleibt offen, ob bei Fortsetzung des Experimentes doch noch eine Synchronisation eingetreten wäre.

Außer den zuvor erwähnten Käfern mit Temperatursynchronie auf nur einem Auge sind noch drei weitere intern verschiedenphasig. Bei zwei von diesen verschieben sich die circadianen Rhythmen zunächst mit einer internen Phasenwinkeldifferenz von 20° bis 35° gegen den Temperaturzyklus . Sobald die externe Phasenwinkeldifferenz 0° erreicht ist, behalten die circadianen Rhythmen diese externe Phasenlage bei und werden

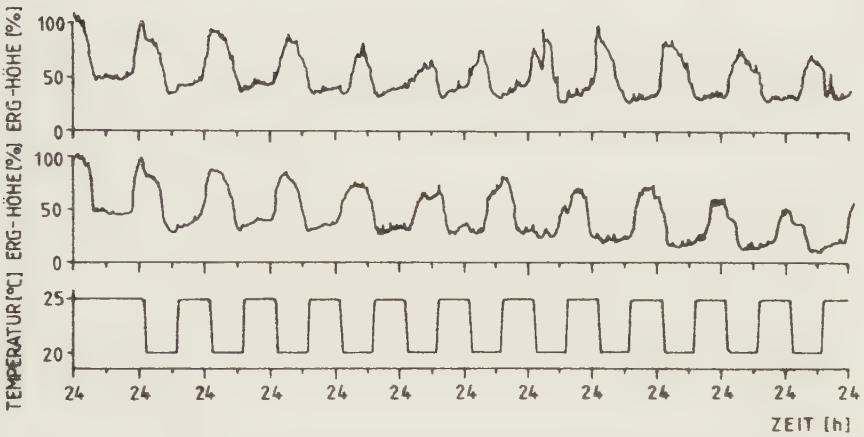

Abb. 22: (12 h : 12 h / 20 °C : 25 °C)-Zyklen (unten) synchronisieren zeitweise den circadianen Rhythmus des rechten Auges (oben), nicht aber den des linken (Mitte).

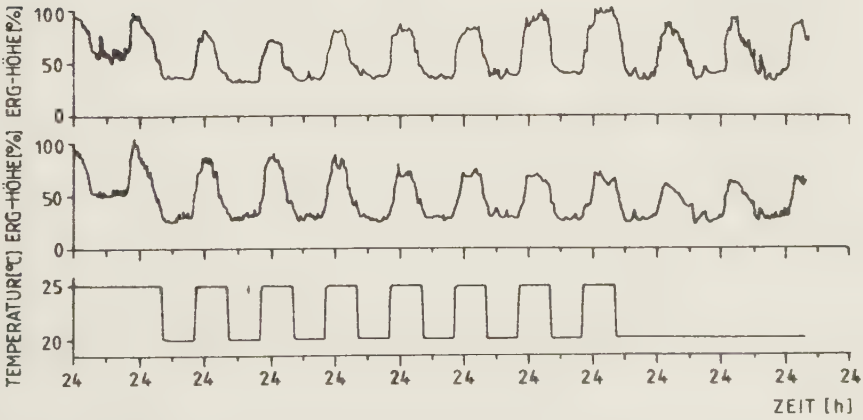

Abb. 23: Die circadianen Rhythmen beider Augen (oben und Mitte) stehen in Antiphase zu den (12 h : 12 h / 20 °C : 25 °C)-Zyklen.

hierbei zugleich intern gleichphasig. Die interne Phasenwinkeldifferenz des dritten Käfers schwankt während der 12tägigen Temperaturzyklen zwischen 1^{o} - 34^{o}. Externe Synchronisation tritt hier weder bei Phasenwinkel 0^{o} noch bei 180^{o} ein.

16 der 24 Versuchstiere werden im Anschluß an die Temperaturzyklen noch 1,5 - 3 d bei 20 ^{o}C untersucht. Während dieser Zeit besitzen 2 Käfer keine circadianen Rhythmen, obwohl diese zu Versuchsbeginn vorhanden waren. Sie werden aber schon während der Temperaturzyklen undeutlich. Bei einem weiteren Mehlkäfer kann nach den Temperaturzyklen ebenfalls kein circadianer Rhythmus mehr festgestellt werden. Dieser ist aber auch schon zeitweise vorher nicht vorhanden. Zwei andere Käfer verlieren im Anschluß an die Temperaturzyklen den circadianen Rhythmus auf einer Seite. Den übrigen 11 Käfern bleibt der circadiane Rhythmus erhalten, darunter dreien mit externer Synchronisation bei Phasenwinkel 0^{o}. Bei diesen 3 Tieren beginnt die subjektive Nacht ungefähr zu dem Zeitpunkt, zu dem an den vorhergehenden Tagen das 20-^{o}C-Intervall einsetzt. Die 3 übrigen Käfer mit externer Synchronisation bei Phasenwinkel 0^{o} werden nach den Temperaturzyklen nicht bei konstanter Temperatur weiteruntersucht.

3.5.4 (12 h : 12 h / 20 °C : 30 °C)-Rhythmen

Nach 3 - 7 d bei 20 °C zu Versuchsbeginn wird an 5 Mehlkäfern der Einfluß von 7 d (12 h : 12 h / 20 °C : 30 °C)-Zyklen untersucht. Bei 3 Tieren wird das ERG von beiden Komplexaugen abgeleitet. Der zeitliche Beginn des ersten 30-°C-Intervalls koinzidiert bei allen Versuchen mit dem Anfang des subjektiven Tages.

Bei 4 Mehlkäfern bleibt das ERG sofort vom ersten Temperaturzyklus an ungefähr gleich hoch. Hauptsächlich beim Temperaturwechsel treten jedoch vorübergehende Änderungen in der ERG-Höhe auf. Diese lassen - wie im folgenden noch eingehend geschildert wird - den Schluß zu, daß ein temperatursynchroner circadianer Rhytnmus vorhanden ist, dessen subjektive Nacht in das 20-°C-Intervall fällt. Da so Temperatur- und circadianer Rhythmus die ERG-Höhe in entgegengesetzter Weise beeinflussen, kompensieren sich beide Auswirkungen mehr oder weniger und halten die ERG-Höhe nahezu konstant. Abb. 24 zeigt ein Beispiel, bei dem das ERG während der gesamten subjektiven Nacht ständig niedriger wird, so daß der wechselnde Einfluß von Temperatur und circadianem Rhythmus deutlich zu erkennen ist.

Manchmal steigt das ERG kurz vor dem Abfall der Temperatur, sinkt aber wenig später - sobald der Temperaturwechsel einsetzt - wieder auf die ursprüngliche Höhe. In diesem Fall beginnt die subjektive Nacht kurz vor Sinken der Temperatur. Sie kann aber auch kurz danach anfangen. Dann fällt die ERG-Höhe zunächst leicht ab. Dieser temperaturbedingte Abfall wird durch den wenig später einsetzenden circadianbedingten Anstieg ausgeglichen, so daß annähernd die ursprüngliche ERG-Höhe erhalten bleibt.

Bei einem Wechsel von 20 °C nach 30 °C laufen die Vorgänge in umgekehrter Richtung ab. Meist sinkt die ERG-Höhe kurz vor der Temperaturerhöhung, weil dann die subjektive Nacht endet. Auf Grund des sodann einsetzenden Temperaturanstiegs wächst die ERG-Höhe wieder. Die Einflüsse auf Abfall und An-

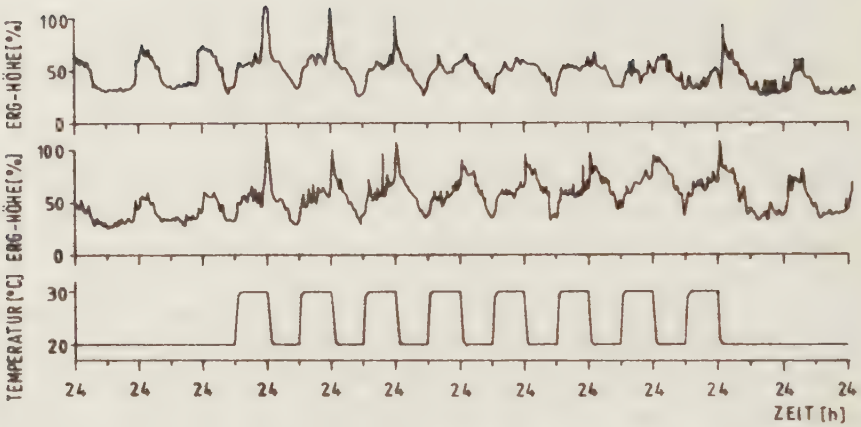

Abb. 24: (12 h : 12 h / 20 °C : 30 °C)-Zyklen (untan) synchronisieren die circadianen ERG-Rhythmen beider Augen (oben und Mitte). Circadianer Rhythmus und Temperaturrhythmus beeinflußen die ERG-Höhe antagonistisch. Die circadianbedingte Abnahme der ERG-Höhe während der subjektiven Nacht erstreckt sich über das gesamte 20-°C-Intervall.

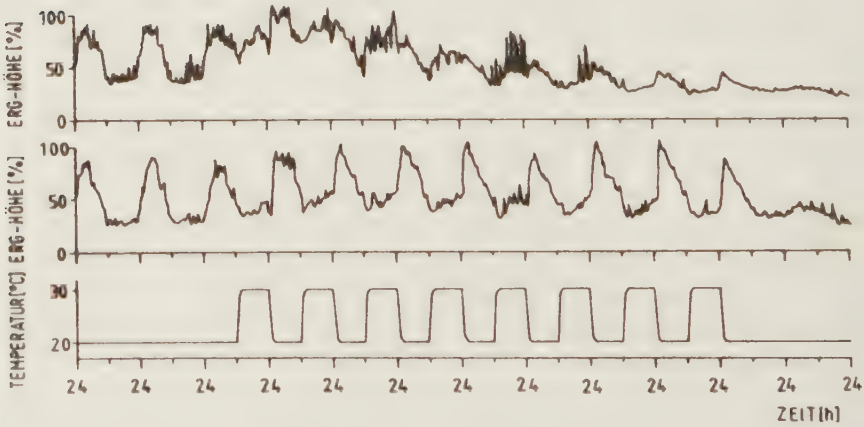

Abb. 25: (12 h : 12 h / 20 °C : 30 °C)-Zyklen synchronisieren die circadianen ERG-Rhythmen (oben: rechtes Auge, Mitte: linkes Auge). Auf dem linken Auge dominiert der Einfluß des circadianen Rhythmus gegenüber dem des Temperaturrhythmus. Am letzten Tag fehlt bei konstanter Temperatur der circadiane Rhythmus.

stieg halten sich in etwa die Waage, so daß die ERG-Amplitude sich kaum ändert.

Der fünfte Mehlkäfer unterscheidet sich hinsichtlich der Synchronisation nicht von den übrigen 4 Tieren. Seine subjektive Nacht beginnt ungefähr eine Stunde nach Einsetzen des 20-°C-Intervalls. Hier beeinflußt jedoch der circadiane Rhythmus die ERG-Höhe wesentlich stärker als der Temperaturwechsel. Auf dem linken Auge ist das ERG während der 20-°C-Intervalle doppelt so hoch wie während der 30-°C-Intervalle. Rechts ist dieser Effekt viel schwächer ausgeprägt (Abb. 25).

Bei 3 Mehlkäfern wird das ERG im Anschluß an die (12 h : 12 h / 20 °C : 30 °C)-Zyklen zusätzlich für 2 d bei 20 °C registriert. Nur ein Käfer besitzt auch während dieser Zeit einen circadianen Rhythmus. Hingegen fehlt er den zwei anderen. Darunter befindet sich auch der mit dem dominierenden circadianen Einfluß.

3.6 Phasenresponse

Bei einigen Versuchen wird die Temperatur sprunghaft geändert. In diesen Fällen wird auch die durch diesen Wechsel hervorgerufene Phasenverschiebung des circadianen Rhythmus ausgewertet. Die gemessenen Phasenverschiebungen sind in Abb. 26 in Abhängigkeit vom circadianen Phasenwinkel, zu dem der Temperatursprung erfolgt, aufgetragen, und zwar für Temperaturwechsel (A) von 20 °C nach 25 °C, (B) von 25 °C nach 20 °C, (C) von 25 °C nach 35 °C und (D) von 20 °C nach 35 °C. Alle vier Diagramme weisen sowohl Verfrühungen als auch Verzögerungen des circadianen Rhythmus auf.

Bei Wechsel von 20 °C nach 25 °C (Abb. 26 A) werden Verfrühungen nur zwischen ca. 90° - 180° beobachtet. Erfolgt der Temperatursprung bei größeren oder kleineren Phasenwinkeln, so wird der untersuchte circadiane Rhythmus verzögert oder bleibt unbeeinflußt.

Für Temperatursprünge von 25 °C nach 20 °C (Abb. 26 B) liegen die Meßwerte ähnlich wie bei Wechsel von 20 °C nach 25 °C. Hier werden Verfrühungen zwischen ca. 180° - 220° beobachtet. Um 220° treten sowohl Verfrühungen als auch Verzögerungen auf. Bei den übrigen untersuchten Phasenwinkeln stellen sich Verzögerungen ein oder fehlen Phasenverschiebungen.

Bei Temperatursprüngen von 25 °C nach 35 °C (Abb. 26 C) und von 20 °C nach 35 °C (Abb. 26 D) werden bei Phasenwinkeln bis 190° Verfrühungen und oberhalb von 190° Verzögerungen beobachtet.

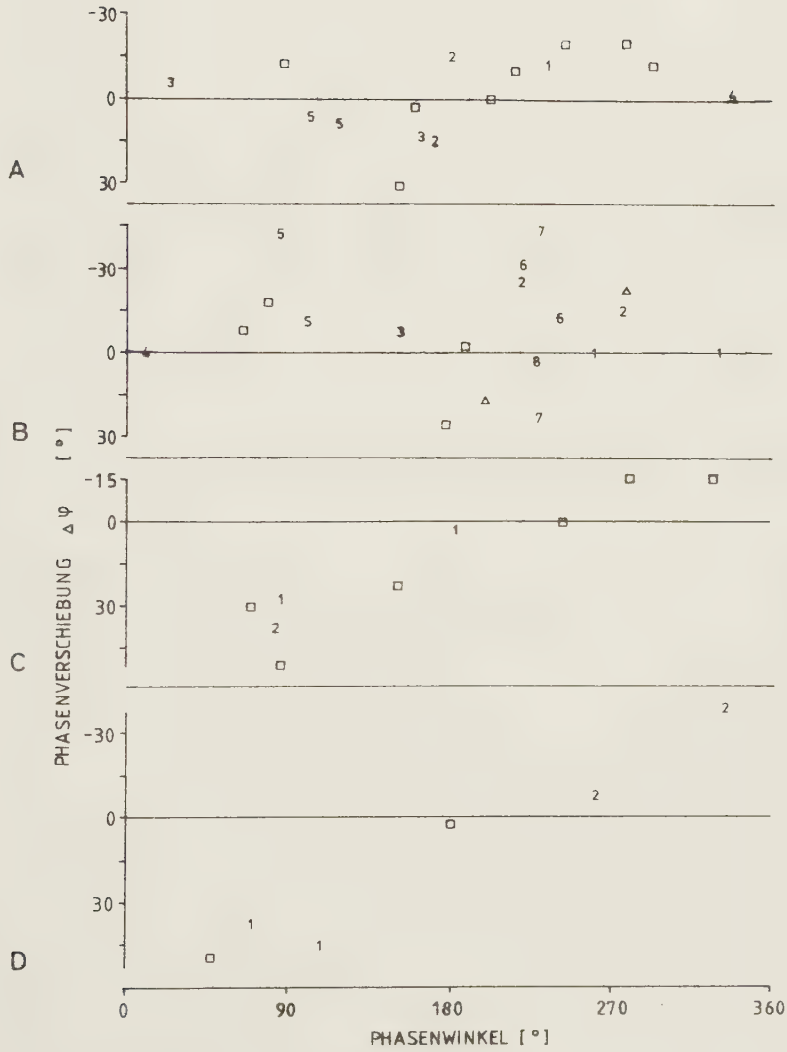

Abb. 26: Phasenresponse des circadianen ERG-Rhythmus von T. molitor. A: Bei Wechsel von 20 °C nach 25 °C. B: Bei Wechsel von 25 °C nach 20 °C. C: Bei Wechsel von 25 °C nach 35 °C. D: Bei Wechsel von 20 °C nach 35 °C. □: Phasenverschiebung bei intern gleichphasigen circadianen Rhythmen. Ziffer: Phasenverschiebung bei intern verschiedenphasigen Rhythmen (innerhalb eines Diagramms die gleiche Ziffer für zwei Meßwerte der beiden Augen eines Tieres). △: Phasenverschiebung bei Registrierung nur eines Auges.

3.7 Der circadiane Rhythmus unter dem Einfluß lokaler Temperaturrhythmen

Eine Lokalisierung der inneren Uhr versuchte man bei Insekten bisher mit Hilfe von Transplantation (Subösophagalganglion: Harker 1956), Exstirpation (Eidmann 1956; Lobi optici: Loher 1972, Page et al. 1977) und Mikroläsionen (Nishiitsutsuji-Uwo & Pittendrigh 1968; Lobus opticus: Roberts 1974, Page & Larimer 1975, Page 1978). Solche Mikropräparationen erfordern außerordentlich großes experimentelles Geschick. Zudem sind derartige Experimente oft nicht eindeutig zu interpretieren. So fehlt bei Mikroläsionen der sonst beobachtbare circadiane Rhythmus nicht nur, wenn die physiologische Uhr zerstört wird, sondern auch bei Unterbrechung ihrer Verbindungsbahnen.

Wünschenswert sind Methoden, die nur einen harmlosen Eingriff beim Insekt erforderlich machen. Hier bieten sich Versuche mit lokalen Temperaturreizen an. Je nachdem ob der Reizpunkt näher oder weiter vom Sitz der physiologischen Uhr entfernt liegt, ist ein stärkerer oder geringerer Temperatureinfluß auf den circadianen Rhythmus zu erwarten. Zur Erprobung dieses Verfahrens werden mit dünnen, am Mehlkäferkopf befestigten Heizdrähten lokale Temperaturrhythmen erzeugt.

Der konkurrierende Einfluß zweier unterschiedlicher Temperaturrhythmen am Mehlkäferkopf wird in Experimenten untersucht, bei denen auf jeder Kopfseite eine Mini-Heizung angebracht ist. In 22 Versuchen befinden sich die Heizungen hinter den Augen (Abb. 27 A) und in 6 Versuchen in der Mitte am Augeninnenrand (Abb. 27 B). Beide Heizungen sind entweder auf der Kopfoberseite oder -unterseite befestigt, wobei der Käfer in Bauch- bzw. Rückenlage an der Halterung angeklebt ist. Bei der zumeist verwendeten Heizleistung von 100 - 130 mW wird der Mehlkäferkopf bis ca. 0,5 mm Abstand von der Mini-Heizung auf ca. 25 ^{o}C erwärmt. Die Temperatur im Abschirmkasten beträgt während der Experimente 18 ^{o}C.

Die von den zwei Mini-Heizungen auf beiden Kopfseiten erzeugten

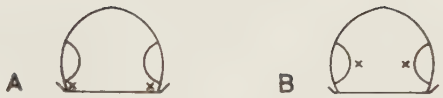

Abb. 27: Lage der Mini-Heizungen am Mehlkäferkopf (schematisch) markiert durch x. A: Die Heizdrähte befinden sich hinter den Augen. B: Die Heizdrähte sind in der Mitte am Augeninnenrand angebracht.

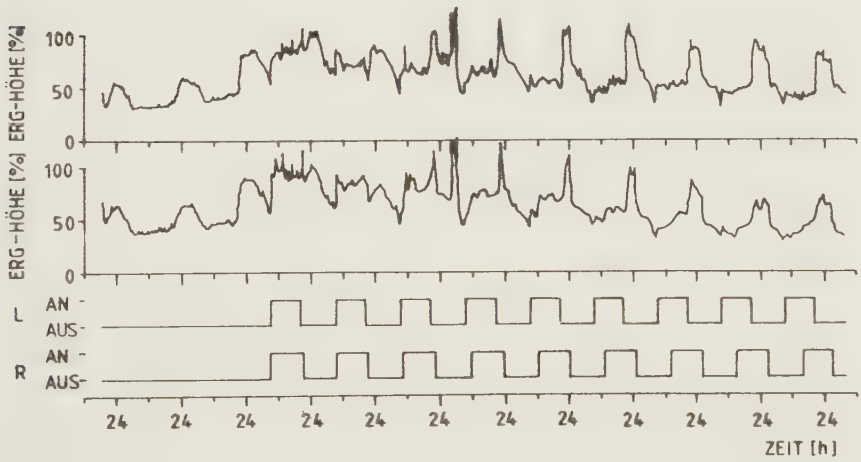

Abb. 28: Die circadianen ERG-Rhythmen der beiden Augen (oben: linkes, Mitte: rechtes) eines Mehlkäfers unter dem Einfluß zweier konkurrierender lokaler Heizrhythmen hinter den Augen (vergl. Abb. 27 A). Der Heizrhythmus mit der kürzeren Periode synchronisiert beide circadiane Rhythmen. Unten L: 24-h-Heizrhythmus (11 h an, 13 h aus) hinter dem linken Auge. Unten R: 25-h-Heizrhythmus (12 h an, 13 h aus) hinter dem rechten Auge. Umgebungstemperatur: 18 °C.

lokalen Temperaturrhythmen unterscheiden sich in der Periode. Folgende 4 Heizprogramme werden verwendet: a.) Heizung 9 h an und 15 h aus (Periode: 24 h) bzw. auf der zweiten Kopfseite 9 h an und 16 h aus (Periode: 25 h), b.) Heizung 12 h an und 12 h aus (Periode: 24 h) bzw. 12 h an und 13 h aus (Periode: 25 h), c.) Heizung 11 h an und 13 h aus (Periode: 24 h) bzw. 12 h an und 13 h aus (Periode: 25 h), d.) Heizung 12 h an und 13 h aus (Periode: 25 h) bzw. 12 h an und 14 h aus (Periode: 26 h). Die Heizrhythmen beginnen 2 - 4 d nach Versuchsanfang auf beiden Kopfseiten gleichphasig und dauern 5 - 9 d.

In der Regel steigt die ERG-Höhe, wenn die Heizung eingeschaltet wird, und sinkt, wenn sie ausgeschaltet wird. Diese Reaktion ist sehr variabel. So kann das Einschalten der Heizung zur Verdoppelung der ERG-Höhe führen, manchmal aber sogar fast ohne Einfluß bleiben. Ein unmittelbarer Temperatureinfluß auf das Komplexauge wird auch bei den Versuchen beobachtet, bei denen die Temperatur im Abschirmkasten rhythmisch geändert wird.

Bei den Versuchen mit Heizungen hinter den Augen geht von den lokalen Temperaturzyklen ein synchronisierender Einfluß aus. In der Regel werden die circadianen Rhythmen der beiden Augen eines Käfers von dem Heizzyklus synchronisiert, der die kürzere Periode aufweist (Abb. 28). Dabei ist ohne Bedeutung, ob die Ober- oder Unterseite des Mehlkäferkopfes beheizt wird, und welches der 4 Heizzyklus-Programme a.) bis d.) benutzt wird.

Die subjektive Nacht ist synchron mit dem unbeheizten Intervall der kürzeren Heizperiode. Koinzidiert bei den zuvor erfolgenden externen Phasenverschiebungen das Heizintervallende des längeren Heizzyklus mit dem Beginn der subjektiven Nacht, so führt dies nicht zur Synchronisation. Vielmehr verschiebt sich der circadiane Rhythmus weiter gegen die Temperaturzyklen bis der Beginn der subjektiven Nacht mit dem Ende des Heizintervalls des kürzeren Heizzyklus zusammenfällt. Von diesem Zeitpunkt an bleiben die Rhythmen synchron.

Allerdings stellt sich nicht immer eine externe Phasenwinkeldifferenz von genau 0° ein, sondern die subjektive Nacht beginnt bis ca. 1 h vor oder nach Abschalten der Heizung. Die externe Synchronisation kann recht schnell eintreten. So dauert es z. B. in einem Fall mit einer externen Phasenwinkeldifferenz von ca. 180° nur 3 d, bis der synchrone Zustand erreicht ist.

Leider wurden bei einigen Experimenten die Heizzyklen nur 6 d lang geboten. Bei diesen Versuchen läßt sich nicht immer entscheiden, ob externe Synchronisation erfolgt.

Meist sind die circadianen Rhythmen während der Heizzyklen intern gleichphasig. In wenigen Fällen treten geringe interne Phasenwinkeldifferenzen bis 3,6 h auf.

Nur bei einem Käfer erreicht die interne Phasenwinkeldifferenz 6,6 h (Abb. 29). Dabei ist der circadiane Rhythmus des linken Auges mit dem Heizzyklus auf der linken Seite (Heizung 11 h an und 13 h aus) und der des rechten Auges mit dem Heizzyklus auf der rechten Seite (Heizung 12 h an und 13 h aus) synchron. Vor Einsetzen der Heizzyklen, an den beiden ersten Versuchstagen, sind die beiden circadianen Rhythmen dieses Käfers intern gleichphasig.

Lediglich bei einem der 6 Experimente mit Heizungen in der Mitte neben den Augen wird externe Synchronisation durch den Heizzyklus mit der kürzeren Periode beobachtet.

Bei den übrigen 5 Versuchen mit Heizungen in der Mitte neben den Augen, aber nur bei 2 von 22 Experimenten mit Heizungen hinter den Augen, ist der circadiane Rhythmus während der Temperaturzyklen nicht oder nur andeutungsweise zu erkennen. Hier scheint vor allem ein dämpfender Einfluß der Heizzyklen auf die Schwingungsweite der circadianen Rhythmen wirksam zu sein. Das ERG eines Mehlkäfers ist vor Beginn der Heizzyklen während der subjektiven Nacht 2,4mal so hoch wie während des subjektiven Tages. Unter Einfluß der Heizzyklen und im Anschluß

daran beträgt dieses ERG-Amplitudenverhältnis nur noch 1,4 bzw. 1,5. Der circadiane Rhythmus eines weiteren Käfers setzt mit Beginn der Heizzyklen auf einem Auge sofort aus. Auch Änderungen der ERG-Höhe durch die Heizzyklen fehlen hier nach einigen Tagen. Im Anschluß an die Heizzyklen bleibt die ERG-Höhe konstant. Der circadiane Rhythmus eines anderen Tieres fehlt während einiger Heizzyklen, und die lokalen Temperaturrhythmen ändern die ERG-Höhe meist nicht nennenswert. Bei den 4 übrigen Käfern zeigt die ERG-Höhe neben Änderungen mit dem Temperaturwechsel nur manchmal geringe Schwankungen, die nach ihrem zeitlichen Verlauf circadianen Ursprungs sein könnten. Möglicherweise wirken sich die Heizzyklen bei den 7 Käfern also hemmend auf den circadianen Rhythmus aus. Allerdings kann ein vorübergehender Ausfall des circadianen Rhythmus oder eine andere Rhythmusstörung selbst unter gleichbleibenden Versuchsbedingungen auftreten.

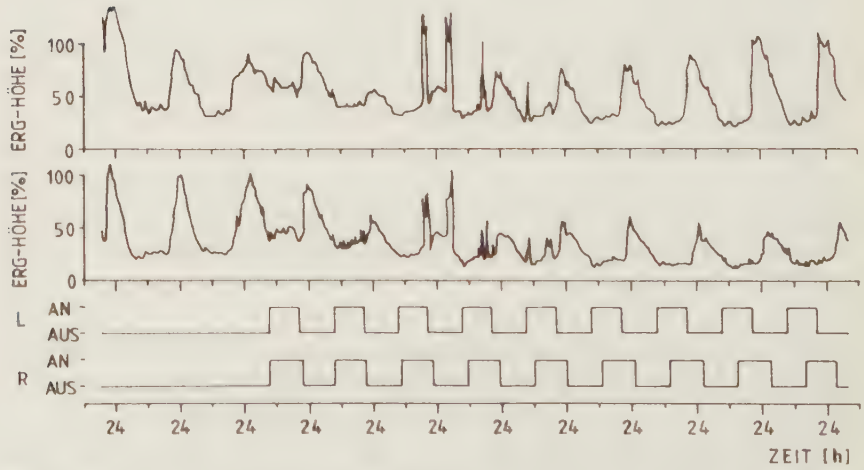

Abb. 29: Die circadianen ERG-Rhythmen der beiden Augen (oben: linkes, Mitte: rechtes) eines Mehlkäfers werden jeweils vom gleichseitigen Heizrhythmus synchronisiert (selten). Unten L: 24-h-Heizrhythmus (11 h an, 13 h aus) hinter dem linken Auge. Unten R: 25-h-Heizrhythmus (12 h an, 13 h aus) hinter dem dem rechten Auge. Umgebungstemperatur: 18 °C.

3.6 Das Fehlen des circadianen Rhythmus bei konstanter Temperatur

Unter 149 Mehlkäfern, deren Elektroretinogramme von beiden Augen bei konstanter Temperatur abgeleitet werden, befindet sich eine relativ große Anzahl von Tieren, denen die ERG-Rhythmen teilweise oder vollständig fehlen. Während mancher der 149 Experimente werden zwei verschiedene Licht- oder Temperaturstufen geboten.

14 Mehlkäfern fehlen die circadianen Rhythmen während des gesamten Versuches auf beiden Augen. Bei diesen Tieren steigt die ERG-Höhe nach einer stärkeren Abnahme während der ersten Stunden im Laufe der ersten 1 - 3 Versuchstage nicht selten auf ungefähr das Doppelte an. Danach, bei einigen Käfern jedoch schon sofort nach Versuchsbeginn, sinkt die ERG-Höhe allmählich. Hierbei zeigen sich erhebliche individuelle Unterschiede. Je nach Tier fällt die ERG-Höhe während der ersten Versuchswoche auf 80 - 20 % ihres maximalen Wertes an den ersten Tagen. Die Versuche dauern meist 7 - 11 d. In einem Fall wird das Fehlen des circadianen Rhythmus auch über 20 d beobachtet. Abb. 30 zeigt ein typisches Beispiel für den Verlauf der ERG-Höhe eines Tieres ohne circadianen Rhythmus.

Manchmal fehlt der circadiane Rhythmus zunächst beidseitig und tritt erst nach einiger Zeit unvermittelt auf (Abb. 31). So besitzen 3 Mehlkäfer, die bei 15 °C untersucht werden, zunächst beidseitig ein ERG von annähernd gleichbleibender Höhe. Erst nach 2 - 5 Versuchstagen setzen circadiane Rhythmen mit internen Phasenwinkeldifferenzen von 150° - 200° ein. Bei einem weiteren Käfer fehlt der circadiane Rhythmus während der ersten Versuchstage bei 15 °C. Anschließend wird die Temperatur auf 25 °C erhöht. Zwei Tage nach dem Temperaturwechsel bildet sich der circadiane Rhythmus heraus. Die interne Phasenwinkeldifferenz beträgt 15°. Bei einem weiteren Experiment, das bei 20 °C konstanter Temperatur durchgeführt wird, stellt sich der circadiane Rhythmus nach 2 Versuchstagen spontan ein. Die interne Phasenwinkeldifferenz beträgt zunächst 7° und am folgenden Tag 155°.

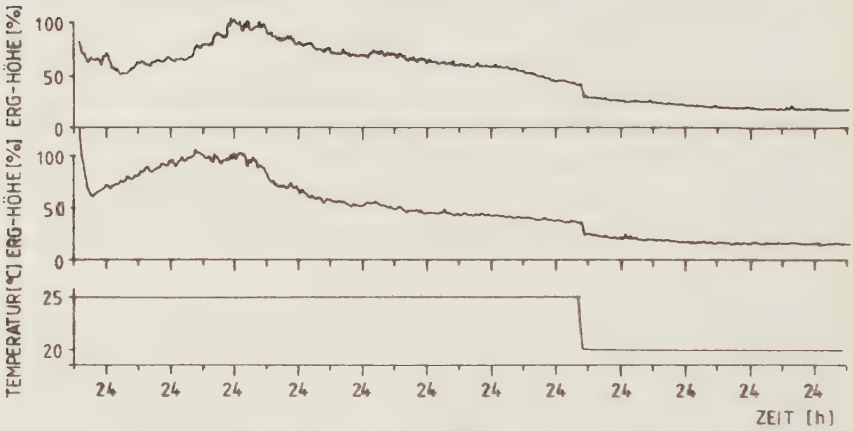

Abb 30: Die circadianen ERG-Rhythmen fehlen auf beiden Augen (oben und Mitte) eines Mehlkäfers. Die ERG-Höhe steigt in den ersten Tagen an und nimmt dann langsam ab. Temperatur 25 °C und 20 °C (unten).

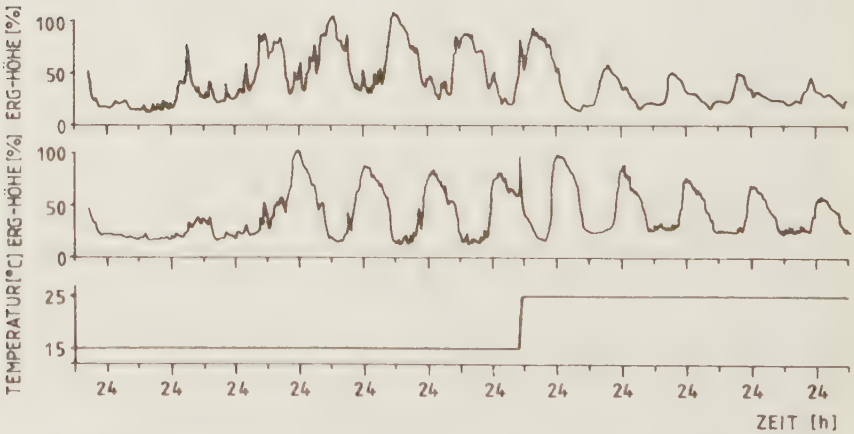

Abb. 31: Circadiane ERG-Rhythmen fehlen anfangs auf beiden Augen (oben und Mitte). Die sich herausbildenden Rhythmen sind intern asynchron. Temperatur 15 °C und 25 °C (unten).

Bei 14 Mehlkäfern fehlt der circadiane Rhythmus ständig auf einem Auge (Abb. 32). Ähnlich wie bei den Käfern ohne Rhythmen auf beiden Seiten, nimmt die ERG-Höhe dieses Auges an den ersten Tagen bei vielen Versuchstieren bis um das Doppelte zu und fällt danach in der Regel langsam ab. Die circadianen Rhythmen fehlen an beiden Kopfseiten in gleicher Größenordnung, und zwar bei 9 Käfern rechts und bei 5 links. Die Periode bei Mehlkäfern mit einseitig fehlendem circadianen Rhythmus beträgt im Mittel 24,5 h und unterscheidet sich damit nicht von der bei Käfern mit intern gleichphasigen Rhythmen. Die Registrierung dauert meist 7 - 11 d und in einem Fall sogar 20 d.

5 Mehlkäfer haben in der ersten Zeit auf einer Seite keinen circadianen Rhythmus. Bei drei dieser Tiere entsteht er spontan 3 - 4 d nach Versuchsbeginn. Die interne Phasenwinkeldifferenz beträgt zunächst 70° - 80°. Hierbei setzt der neue Rhythmus einmal früher und zweimal später als der des anderen Auges ein. Während der folgenden Zyklen bleibt die interne Phasenwinkeldifferenz annähernd gleich groß oder wird kleiner. Diese 3 Versuche werden bei 15 °C, 20 °C und 25 °C durchgeführt. Der circadiane Rhythmus der beiden übrigen Mehlkäfer, die bei 20 °C beobachtet werden, beginnt auf dem zweiten Auge nach Herabsetzung der Spitzenbeleuchtungsstärke der Reizlichtimpulse. Diese beträgt zunächst 6 d lang 540 lx und wird dann auf 70 lx abgesenkt. Bei einem Käfer tritt der circadiane Rhythmus schon 2 h nach Lichtwechsel auf. Die interne Phasenwinkeldifferenz beträgt dabei 8°. Der circadiane Rhythmus des anderen Käfers setzt erst 1 d nach Lichtwechsel mit 130° interner Phasenwinkeldifferenz verspätet gegenüber dem dauernd vorhandenen ein. Die interne Phasenwinkeldifferenz wird aber schnell kleiner und beträgt nach zwei Zyklen nur noch ca. 15°.

Andererseits kann auch ein zunächst vorhandener circadianer Rhythmus auf beiden Augen erlöschen. Dies wird bei zwei Käfern beobachtet. In einem Fall verschwindet der Rhythmus nach Verringerung der Lichtintensität von 540 lx auf 70 lx und im anderen nach Temperaturabsenkung von 30 °C auf 20 °C.

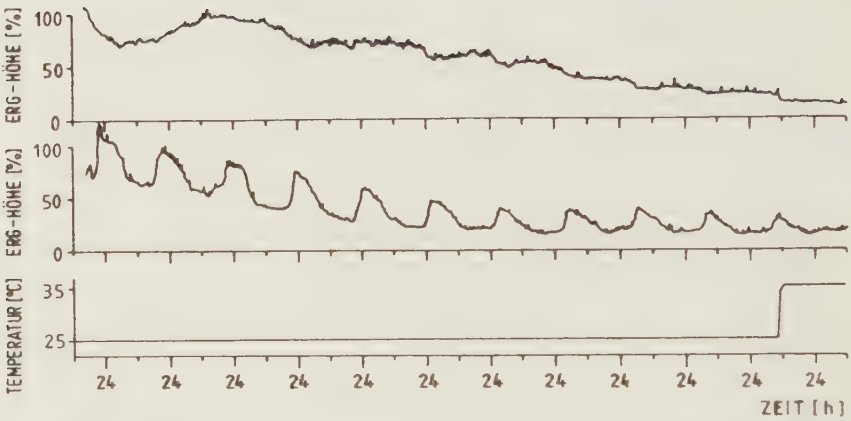

Abb. 32: Der circadiane ERG-Rhythmus fehlt auf dem rechten Auge (oben) und ist auf dem linken (Mitte) vorhanden. Temperatur 25 °C und 35 °C (unten).

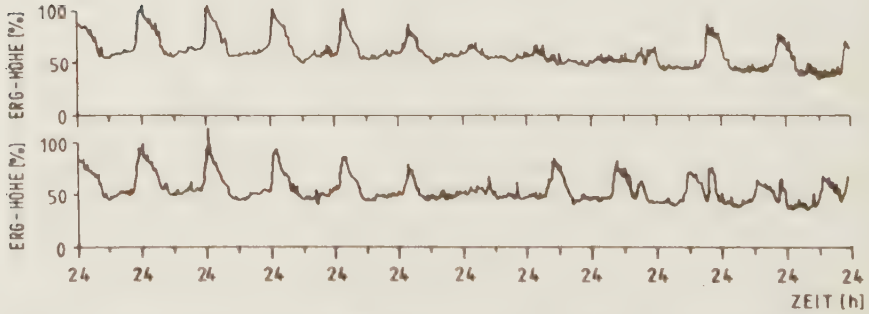

Abb. 33: Die circadianen ERG-Rhythmen fehlen vorübergehend auf beiden Augen. Temperatur 20 °C. Unten: An den letzten 4 d Aufspaltung des Rhythmus in zwei Komponenten.

Bei zwei weiteren Käfern erlischt der circadiane Rhythmus einseitig. Dies erfolgt bei einem spontan nach 11 Versuchstagen bei 20 °C. Der Versuch wird noch weitere 6 d fortgesetzt. Der circadiane Rhythmus des zweiten Mehlkäfers verschwindet auf einem Auge nach Temperaturwechsel von 30 °C nach 20 °C.

31 Mehlkäfern fehlt der circadiane Rhythmus nur kurzfristig an einem oder an wenigen Tagen auf einem oder beiden Augen (Abb. 33). Derartige Ausfälle treten bei 15 Käfern mit intern gleichphasigen und bei 16 Käfern mit intern verschiedenphasigen Rhythmen auf.

Einem Mehlkäfer fehlt der circadiane Rhythmus zunächst auf einem und später auf dem anderen Auge.

3.9 Intern verschiedenphasige circadiane Rhythmen

27 % (39 von 143) Mehlkäfer, deren Elektroretinogramme beidseitig bei ein oder zwei Temperaturstufen zwischen 15 °C bis 25 °C abgeleitet werden, besitzen intern verschiedenphasige, dauernd vorhandene circadiane ERG-Rhythmen. Weitere 20 % (28 von 143) haben ebenfalls intern verschiedenphasige circadiane Rhythmen, die aber zeitweise ein- oder beidseitig fehlen. Im folgenden wird auf die Mehlkäfer mit dauernd vorhandenem Rhythmus näher eingegangen.

Der erste circadiane Zyklus weist bei 5 der 39 Mehlkäfer bereits eine erhebliche interne Phasenwinkeldifferenz auf (45°, 47°, 65°, 104°, 155°). Möglicherweise sind also die Rhythmen dieser Tiere nicht synchron zu den tagesperiodischen Hell-Dunkel-Zyklen im Zuchtkasten. Zwei weitere Käfer haben am Anfang des zweiten circadianen Zyklus eine interne Phasenwinkeldifferenz von mehr als 60°.

Bei den restlichen 32 Mehlkäfern ist die interne Phasenwinkeldifferenz zu Versuchsbeginn gering und vergrößert sich erst allmählich. Sie beträgt 15° nach 2,7 ± 0,5 Zyklen (n = 32), 45° nach 5,8 ± 0,7 Zyklen (n = 26) und 60° nach 7,6 ± 0,7 Zyklen (n = 20). Da die meisten Versuche nur 10 - 14 d dauern, kann die interne Asynchronie vorwiegend nur im Anfangsstadium beobachtet werden. 7 der 32 Käfer erreichen jedoch eine interne Phasenwinkeldifferenz von mehr als 180°, darunter sogar einer 492°.

Bei 5 der 39 Käfer weicht die interne Phasenwinkeldifferenz nie sehr stark von 0° ab. Sie kann zwar während weniger Zyklen bis zu fast 40° erreichen, wird aber an den meisten Tagen nicht größer als 15°. Dabei stellen sich die größeren Phasenwinkeldifferenzen verteilt zwischen den geringeren ein.

Eine von 0° verschiedene interne Phasenwinkeldifferenz bleibt nur bei einem der 39 Mehlkäfer während des gesamten Experimentes fast konstant. Sie beträgt bei diesem Tier 87 ± 3° (n = 15).

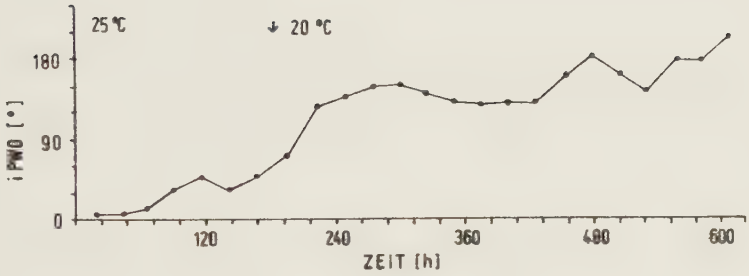

Abb. 34: Änderung der internen Phasenwinkeldifferenz (iPWD) zwischen den circadianen Rhythmen der beiden Augen eines Mehlkäfers. Die Versuchstemperatur beträgt zunächst 25 °C und sinkt bei 183,5 h auf 20 °C.

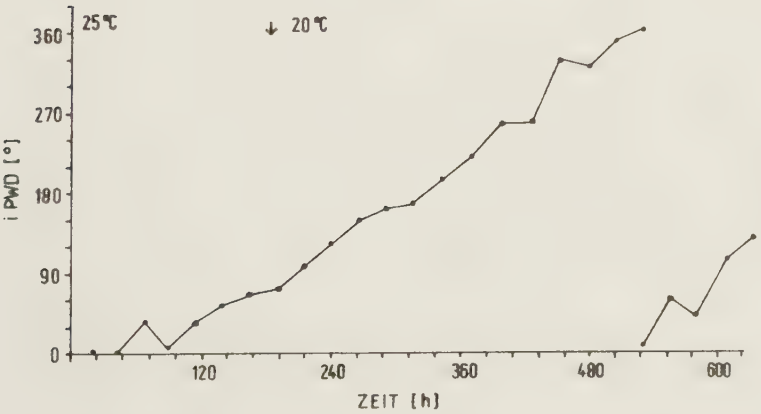

Abb. 35: Änderung der internen Phasenwinkeldifferenz (iPWD) zwischen den circadianen Rhythmen der beiden Augen eines Mehlkäfers. Die Versuchstemperatur beträgt zunächst 25 °C und sinkt bei 183,5 h auf 20 °C.

Die circadianen Rhythmen der übrigen Käfer sind intern asynchron.

Bei vielen Mehlkäfern verschieben sich die circadianen Rhythmen der beiden Augen nicht ständig gegeneinander. Vielmehr bleibt die interne Phasenwinkeldifferenz ab und zu wenige Tage, manchmal sogar über eine Woche annähernd konstant und ändert sich erst dann wieder. Ob und wann solche konstanten internen Phasenwinkeldifferenzen auftreten und wie lange sie bestehen bleiben, ist bei den einzelnen Tieren recht unterschiedlich. Zwei Beispiele mögen die große individuelle Variabilität verdeutlichen. Abb. 34 zeigt als erstes Beispiel einen Fall, bei dem die interne Phasenwinkeldifferenz über längere Zeitabschnitte annähernd konstant bleibt. Die interne Phasenwinkeldifferenz ist zu Versuchsbeginn 4,5° und wird während der folgenden Zyklen zunächst laufend größer. Dann verharrt sie für 4 Zyklen bei ca. 40° und steigt anschließend um 34°/d. Schließlich bleibt sie für 9 Zyklen auf im Mittel 138° annähernd konstant. In den beiden Zeitabschnitten mit relativ geringen Veränderungen bei 40° und 138° steigt die Phasenwinkeldifferenz zunächst leicht an und nimmt dann wieder geringfügig ab. Dieses Überschwingen ist in der Regel bei anderen Tieren nicht zu beobachten. Abb. 35 bringt als zweites Beispiel die Kurve für einen Käfer, dessen interne Phasenwinkeldifferenz nur für sehr kurze Zeitintervalle annähernd gleichbleibt, und zwar jeweils für zwei aufeinanderfolgende Zyklen bei 69°, 166° und 260°. Während der übrigen Zeit ändert sich die interne Phasenwinkeldifferenz um 15°/d bis 26°/d.

Trotz der starken individuellen Unterschiede bleiben bestimmte interne Phasenwinkeldifferenzen bevorzugt längere Zeit unverändert bestehen (Abb. 36). Konstante interne Phasenwinkeldifferenzen treten von 50° bis 70° oft auf und sind bei 80° bis 90° selten. Zwischen 100° und 130° wird nie eine konstante interne Phasenwinkeldifferenz beobachtet. Von 140° bis 160° nimmt die Häufigkeit deutlich zu. Oberhalb 180° ist der Verlauf der Häufigkeitskurve ungeklärt, da für diesen Bereich zu wenige Beobachtungen vorliegen.

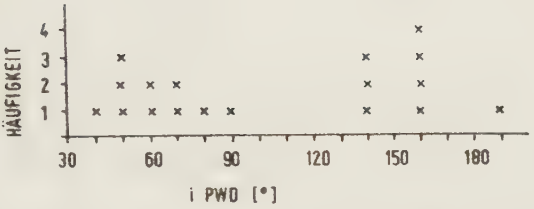

Abb. 36: Häufigkeit, mit der bei intern verschiedenphasigen circadianen ERG-Rhythmen die interne Phasenwinkeldifferenz (iPWD) für mindestens einige Zyklen konstant bleibt.

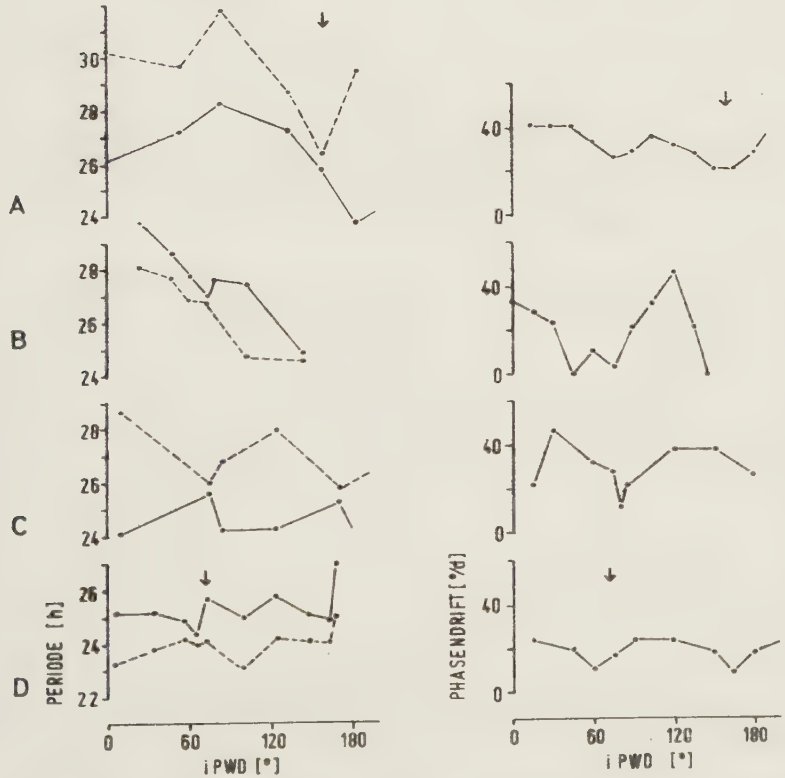

Abb. 37: Periode und interne Phasendrift in Abhängigkeit von der internen Phasenwinkeldifferenz (iPWD). Die Periode ist für das rechte Auge durchgezogen und für das linke gestrichelt eingezeichnet. Wechsel der Versuchsbedingungen markiert ein Pfeil. A: Versuch 288 bei 20 °C, zunächst 540 lx und ab 160° iPWD 70 lx. B: Versuch 256 bei 20 °C und 120 lx. C: Versuch 303 bei 25 °C und 160 lx. D: Versuch 347 zunächst bei 25 °C und ab 72° iPWD bei 20 °C, 160 lx. Angegeben ist die Spitzenbeleuchtungsstärke der Reizlichtimpulse.

Die gerade beschriebene Häufigkeitsverteilung der konstanten Phasenwinkeldifferenzen beruht darauf, daß die interne Phasendrift in gesetzmäßiger Weise von der jeweiligen internen Phasenwinkeldifferenz abhängt. Den Übergang vom intern gleichphasigen zum asynchronen Zustand leitet meist eine starke Änderung der internen Phasenwinkeldifferenz ein. Mit wachsender Phasenwinkeldifferenz nimmt die Phasendrift zunächst ab und hat bei 51 $\pm$ 8° (n = 7) ein Minimum von 7 $\pm$ 4°/d (n = 7). Anschließend erhöht sich die Phasendrift wieder und erreicht bei 96 $\pm$ 9° (n = 8) ein Maximum von 44 $\pm$ 6°/d (n = 8). Darauf folgt bei 140 $\pm$ 8° (n = 7) nochmals ein Minimum von 10 $\pm$ 3°/d (n = 7). Die Lage der Minima unterscheiden sich signifikant von der Lage des Maximums (einseitiger t-Test für verbundene Stichproben; in beiden Fällen $P < 0{,}001$). Abb. 37 zeigt einige Beispiele für die Abhängigkeit der internen Phasendrift von der internen Phasenwinkeldifferenz.

Die Perioden der circadianen ERG-Rhythmen ändern sich ohne erkennbare Gesetzmäßigkeiten bei den einzelnen Tieren sehr unterschiedlich. So besteht bei manchen Mehlkäfern auf beiden Augen ein konformer Trend. Abb. 37 A zeigt ein Beispiel, bei dem die Perioden zunächst mit zunehmender Phasenwinkeldifferenz beidseitig größer und anschließend nach einem Maximum gleichzeitig wieder kleiner werden. Ein zweites Beispiel bringt Abb. 37 B. Hier werden die Perioden mit wachsender Phasenwinkeldifferenz laufend kürzer. Sie sinken auf einem Auge von 29,8 h auf 24,9 h und auf dem anderen von 28,1 h auf 24,6 h. Im Gegensatz hierzu ändern sich bei anderen Mehlkäfern die Perioden auf beiden Augen konträr. Abb. 37 C zeigt einen Fall, in dem auf einem Auge die Periode nach einer anfänglichen Verkürzung größer wird, bei 120° ein Maximum erreicht und schließlich wieder kleiner wird. Der Rhythmus des zweiten verhält sich entgegengesetzt. Seine Periode wird im Anschluß an eine vorübergehende Verlängerung kürzer, erreicht bei ca. 90° - 120° ein Minimum und nimmt dann wieder zu. Die Perioden zeigen bei den meisten Käfern hingegen auf beiden Augen weder einen konformen noch einen deutlichen konträren Trend, sondern ändern sich unregelmäßig und scheinbar unabhängig voneinander (Abb. 37 D).

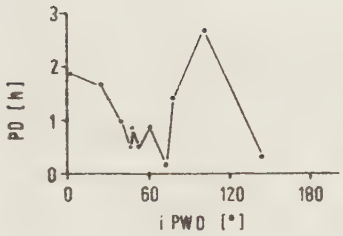

Abb. 38: Periodendifferenz (PD) zwischen den circadianen Rhythmen der beiden Augen eines Mehlkäfers in Abhängigkeit von der internen Phasenwinkeldifferenz (iPWD). In Abb. 37 B ist die interne Phasendrift desselben Tieres dargestellt. Versuch 256.

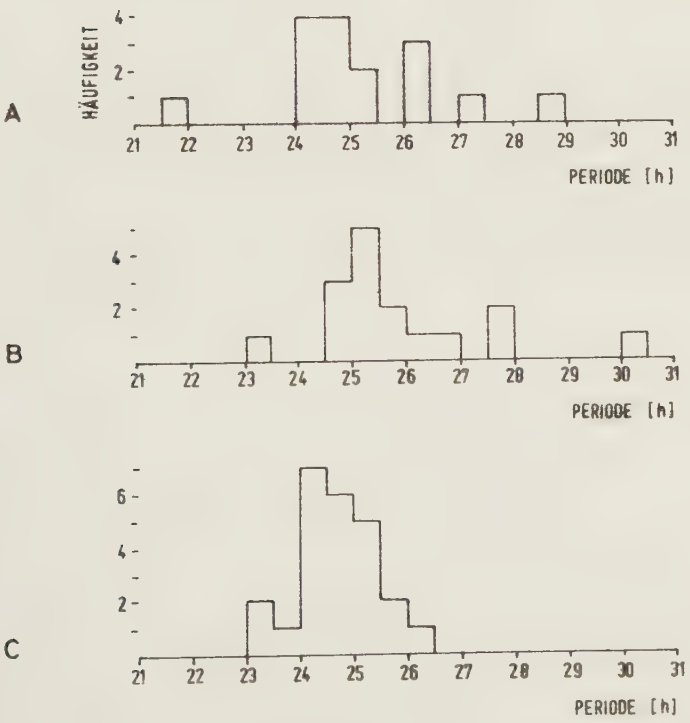

Abb. 39: Perioden-Häufigkeit der circadianen ERG-Rhythmen von T. molitor bei 20 °C und 25 °C. Die Werte sind arithmetische Mittel von 4 aufeinanderfolgenden circadianen Zyklen 2 - 3 d nach Versuchsbeginn. A: Perioden-Häufigkeit des schnelleren circadianen Rhythmus bei Käfern mit interner Asynchronie. B: Perioden-Häufigkeit des langsameren Rhythmus derselben Tiere wie unter A. C: Perioden-Häufigkeit bei Käfern mit internem gleichphasigen Rhythmen.

Trotz dieser uneinheitlichen Frequenzänderungen vollführen die Perioden der beiden asynchronen Rhythmen eines Tieres schwache konträre Schwankungen. Diese sind aber erst deutlich zu erkennen, wenn man die überlagerten großen ungleichmäßigen Fluktuationen eliminiert. Hierzu wird anstelle der Perioden der beiden Rhythmen die jeweilige Differenz zwischen ihnen betrachtet (Abb. 38). Diese weist wie die Phasendrift regelmäßige Schwankungen in Abhängigkeit von der Phasenwinkeldifferenz auf.

Im Mittel weichen die Perioden der beiden Augen bei Mehlkäfern mit asynchronen Rhythmen um 0,6 h voneinander ab. Die längere Periode beträgt 25,8 $\pm$ 0,4 h (n = 16) und die kürzere 25,2 $\pm$ 0,4 h (n = 16). Nur erstere unterscheidet sich signifikant von der Periode intern gleichphasiger Rhythmen, die im Durchschnitt 24,7 $\pm$ 0,1 h dauert (zweiseitiger t-Test für ungleiche Varianzen, längere Periode: $P = 0{,}02$, kürzere Periode: $P > 0{,}2$) (Abb. 39). Die Varianz der Periode ist bei asynchronen Zyklen signifikant größer als bei gleichphasigen (zweiseitiger F-Test, sowohl für längere als auch für kürzere Periode: $P < 0{,}002$).

3.10 Untersuchungen zur Entstehung von circadianen Rhythmusstörungen

3.10.1 Temperaturwechsel und interne Asynchronie

Da in einigen Versuchen die Temperatur nach einer Woche sprunghaft geändert wird, läßt sich hier prüfen, ob ein Temperaturwechsel interne Asynchronie auszulösen vermag. In die Auswertung werden neben den Mehlkäfern mit intern gleichphasigen Rhythmen vor Temperaturwechsel auch die Tiere einbezogen, deren Rhythmen während dieser Zeit lediglich selten Phasenwinkeldifferenzen von mehr als 1 h aufweisen.

Bei 5 Mehlkäfern wird die Temperatur von 20 °C auf 25 °C erhöht. Nach Temperaturwechsel bleibt die interne Phasenwinkeldifferenz bei 3 der Käfer weiterhin um 0°. Die circadianen Rhythmen eines Mehlkäfers verschieben sich sofort nach Temperaturwechsel mit großer Phasendrift gegeneinander. Bei einem weiteren Käfer werden die Rhythmen erst 4 d nach dem Temperatursprung intern asynchron.

Für Wechsel von 25 °C nach 20 °C sind ebenfalls 5 Mehlkäfer untersucht worden. Nach der Temperaturänderung verschieben sich bei 3 Käfern die Rhythmen beider Augen stark gegeneinander. Die circadianen Rhythmen von 2 Mehlkäfern haben weiterhin interne Phasenwinkeldifferenzen um 0°.

Bei einigen der Käfer, deren circadiane Rhythmen sporadisch um mehr als 1 h gegeneinander verschoben sind und somit möglicherweise eine gewisse Bereitschaft zur internen Asynchronie erkennen lassen, vergrößert sich die interne Phasenwinkeldifferenz nicht weiter. Andererseits können streng gleichphasige Rhythmen nach Temperaturwechsel intern asynchron werden.

3.10.2 Futter

Interne Asynchronie und Fehlen des circadianen Rhythmus könnten durch Futterbeimengungen, wie z. B. Insektizide, hervorgerufen werden. Um den Einfluß der Nahrung auf die circadiane Rhythmik zu testen, wird eine Anzahl von Mehlwürmern und Mehlkäfern der ursprünglichen Institutszucht nicht mehr mit Weizenkleie und Hefe sondern mit Weizenmehl und Haferflocken gefüttert. Während der ersten 8 Wochen erhalten die Tiere zusätzlich Milchpulver, dann statt dessen wie früher Möhren. Dem Futter beigefügt wird eine winzige Menge Cholesterin. Außerdem werden nun die Lappen in den Zuchtkästen statt mit Leitungswasser mit destilliertem Wasser angefeuchtet. Die Insekten sind in einem Labor mit natürlichen Temperaturschwankungen untergebracht.

5 Käfer, die einschließlich ihrer Larvenzeit 6 Wochen die neue Diät erhalten haben, werden 20 d bei 20 °C untersucht. Bei 3 Käfern ist der circadiane Rhythmus intern verschiedenphasig und bei den beiden anderen fehlt er ein- bzw. beidsseitig. Einem der Käfer mit intern verschiedenphasigen Rhythmen und dem mit einseitigen Rhythmus fehlen die Rhythmen zusätzlich zeitweise.

12 Wochen nachdem die Tiere das neue Futter bekommen, werden weitere 5 Käfer für 7 d bei 25 °C und anschließend 4 d bei 20 °C untersucht. Von diesen Käfern sind zwei intern verschiedenphasig, einem fehlt der circadiane Rhythmus einseitig und zweien beidseitig.

Als Kontrolle werden etwa gleichzeitig 8 Mehlkäfer, die weiter mit Kleie und Hefe gefüttert worden sind, für ungefähr 1 Woche bei 20 °C bzw. 25 °C beobachtet. Ein Tier ist intern gleichphasig und fünf sind verschiedenphasig. Einem fehlt der circadiane Rhythmus zeitweise und einem einseitig. In Tabelle 2 sind die Versuchsergebnisse zusammengestellt. Ein signifikanter Unterschied zwischen dem Einfluß von Kleie-Hefe- und Weizenmehl-Haferflocken-Futter ist nicht nachweisbar (χ^2-Test, $P = 0{,}4$).

Tabelle 2: Anzahl der Mehlkäfer, die nach Ernährung mit Mehl + Haferflocken bzw. Weizenkleie + Hefe intern gleichphasige, intern verschiedenphasige oder fehlende circadiane Rhythmen aufweisen. Untersuchungen bei 20 °C oder 25 °C konstanter Temperatur. Käfer, denen der Rhythmus vorrübergehend auf einem oder beiden Augen fehlt, sind nur unter "fehlt zeitweise", nicht aber unter "intern gleichphasig", "intern verschiedenphasig" oder "fehlt einseitig" aufgeführt.

	Mehl + Haferflocken	Weizenkleie + Hefe
intern gleichphasig	0	1
intern verschiedenphasig	4	5
fehlt zeitweise	2	1
fehlt einseitig	1	1
fehlt beidseitig	3	0

Tabelle 3: Anzahl der Mehlkäfer ohne oder mit Rhythmusstörungen nach Haltung im Brutschrank bzw. im Labor. Untersuchungen bei konstanter Temperatur von 20 °C oder 25 °C. Ohne Rhythmusstörungen: Rhythmen sind intern gleichphasig und dauernd vorhanden. Mit Rhythmusstörungen: Rhythmen sind intern verschiedenphasig oder fehlen teilweise oder völlig.

	Brutschrank	Labor
ohne Rhythmusstörungen	4	4
mit Rhythmusstörungen	5	5

Tabelle 4: Anzahl der Mehlkäfer unterschiedlicher Provenienz mit intern gleichphasigen, intern verschiedenphasigen oder fehlenden circadianen Rhythmen. Untersuchungen bei konstanter Temperatur von 20 °C oder 25 °C. Zuordnung der Käfer in die Gruppen wie in Tabelle 2.

	Bonn	Darmstadt	Heidelberg	Hohenheim	Wandler	Hoffmann	Vogelpeter	Radke	Rosenbaum	eigenes Inst.
intern gleichphasig	0	1	0	0	2	5	2	0	12	5
intern verschiedenphasig	0	0	3	1	1	2	0	3	14	15
fehlt zeitweise	0	0	1	2	0	3	0	1	9	7
fehlt einseitig	2	0	0	0	0	1	1	1	4	2
fehlt beidseitig	2	0	0	0	0	2	0	0	1	3

3.10.3 Zuchtbedingungen

Neuerworbene Mehlwürmer werden für 1 - 2 Monate mit Weizenkleie und Hefe teils im Brutschrank und teils im Labor gehalten. Von beiden Gruppen werden jeweils 9 Mehlkäfer für 1 - 2 Wochen bei 20 °C oder 25 °C untersucht. Wie aus der Tabelle 3 zu ersehen ist, haben bei beiden Aufzuchtmethoden 4 Käfer dauernd vorhandene intern gleichphasige Rhythmen. Bei den übrigen Tieren sind die circadianen Rhythmen intern verschiedenphasig oder fehlen teilweise oder völlig. Für die Ausbildung der circadianen Rhythmen besteht zwischen Haltung im Brutschrank und im Labor kein signifikanter Unterschied (χ^2-Test, P = 1).

3.10.4 Provenienz

Mehlkäfer verschiedener Provenienz werden untersucht, um zu klären, wie verbreitet circadiane Rhythmusstörungen sind. Die Käfer stammen aus Institutszuchten von Hochschulen (Bonn, Darmstadt, Heidelberg, Hohenheim), verschiedenen Zoologischen Handlungen (Düsseldorf: Radke, Rosenbaum; Köln: Hoffmann; Würzburg: Vogelpeter) und Privatzucht (Wendler). Tabelle 4 zeigt, wieviele der Käfer bei 20 °C oder 25 °C konstanter Versuchstemperatur intern gleichphasig, intern verschiedenphasig oder ohne circadianen Rhythmus sind. Außer der Darmstadt-Zucht, von der nur ein Mehlkäfer untersucht wird, enthält jede Zucht Käfer, die nicht dauernd intern gleichphasig sind.

Von den Käfern aus Bonn, Heidelberg, Hohenheim und von Radke hat kein einziger intern gleichphasige, dauernd vorhandene circadiane Rhythmen.

Aus der Zucht des Institutes für Angewandte Zoologie der Universität Bonn werden 4 Mehlkäfer untersucht. Zweien fehlt der circadiane Rhythmus beidseitig. Sie sterben schon nach 2 Versuchstagen. Die physiologische Entwicklung dieser Käfer ist wahrscheinlich gestört. Obwohl beide zu Versuchsbeginn

7 - 9 d alt sind, haben sie noch eine hellbraune Kutikula, während die Färbung in diesem Alter üblicherweise schon dunkelbraun bis schwarz ist. Die beiden anderen Käfer besitzen nur auf einem Auge einen circadianen Rhythmus. Eins dieser Tiere stirbt schon nach 4 d.

Aus dem Zoologischen Institut 1 der Universität Heidelberg stammen 4 Mehlkäfer. Ihre circadianen Rhythmen sind intern verschiedenphasig. Einem der Käfer fehlt der Rhythmus außerdem zeitweise. Ein weiterer, bei 15 °C untersuchter Käfer hat intern verschiedenphasige, sporadisch fehlende Rhythmen.

Von 3 Mehlkäfern der Institutszucht der Universität Hohenheim haben zwei intern verschiedenphasige Rhythmen, die bei einem zeitweise ausfallen. Einem weiteren Käfer fehlt der Rhythmus an den meisten Tagen.

Aus der Düsseldorfer Tierhandlung Radke werden 5 Mehlkäfer untersucht. Der Rhythmus von 3 Tieren ist verschiedenphasig, bei einem fehlt er einseitig und bei einem weiteren zeitweise.

Die Zuchten Darmstadt, Wendler, Hoffmann, Vogelpeter, Rosenbaum und die eigene Institutszucht enthalten Käfer mit gleichphasigen circadianen Rhythmen.

Von den Mehlkäfern, die im Institut für Zoologie der Technischen Hochschule Darmstadt in einer Schabenzucht leben, wird nur ein Tier untersucht. Dieses hat gleichphasige circadiane Rhythmen.

Aus der Zucht Wendler sind von 3 Mehlkäfern zwei während des gesamten Versuchs intern gleichphasig. Der dritte ist dies nur während der ersten 10 d. An den letzten 3 d treten zwischen den Rhythmen der beiden Augen Phasenwinkeldifferenzen von 2,2 bis 3,9 h auf. Ein weiteres, bei 15 °C untersuchtes Tier, an dessen Kopf eine Heizung im 12-h-Zyklus ein- und ausgeschaltet wird, besitzt intern gleichphasige Rhythmen.

Da die Wendler-Zucht viele Tiere mit intern gleichphasigen Rhythmen zu enthalten scheint, werden Käfer aus der Tierhandlung Hoffmann in Köln untersucht, weil davon die Wendler-Zucht abstammt. Von 13 Mehlkäfern aus der Zoohandlung Hoffmann sind 5 intern gleichphasig und 2 intern verschiedenphasig. Dreien fehlt der circadiane Rhythmus zeitweise, zweien beidseitig und einem einseitig.

Aus der Zoohandlung Vogelpeter in Würzburg, deren Mehlkäfer vor Jahren immer intern gleichphasig waren (Schneider, persönliche Mitteilung), werden 3 Tiere untersucht. Zwei sind intern gleichphasig und einem fehlt der circadiane Rhythmus auf einer Seite. Ein vierter, bei 30 ^{o}C untersuchter Käfer, hat ebenfalls intern gleichphasige Rhythmen.

Aus der Düsseldorfer Zoohandlung Rosenbaum werden 40 Käfer untersucht. 30 % sind intern gleichphasig und 35 % verschiedenphasig. 22,5 % fehlt der circadiane Rhythmus zeitweise, 10 % einseitig und 2,5 % beidseitig.

Während des Zeitraums, in dem Versuche mit Käfer unterschiedlicher Provenienz durchgeführt werden, finden Messungen an 32 Mehlkäfern unserer Institutszucht statt. Von diesen Tieren sind 16 % intern gleichphasig und 47 % verschiedenphasig. 22 % fehlt der circadiane Rhythmus zeitweise, 6 % einseitig und 9 % beidseitig.

Zwischen den Gruppen "Hoffmann", "Rosenbaum" und "eigenes Institut" bestehen in bezug auf die circadianen Rhythmen keine signifikanten Unterschiede ($P > 0{,}05$; χ^2-Test nach Zusammenfassung der drei letzten Zeilen in Tabelle 4). Die übrigen Gruppen mit nur jeweils 3 bis 5 Tieren sind für eine statistische Auswertung zu klein. Da hier Mehlkäfer mit dauernden, intern gleichphasigen Rhythmen nur in den Gruppen "Darmstadt", "Wendler" und "Vogelpeter" vorkommen, hat die Herkunft möglicherweise Einfluß auf die Ausprägung der Rhythmen.

3.11 Rhythmusstörungen und Mortalität

Während der Versuche sterben 13 von 143 Mehlkäfer, die bei konstanter Temperatur (15 °C, 20 °C, 25 °C) untersucht werden. Von diesen 13 Käfern besitzen 3 dauernd vorhandene, intern gleichphasige circadiane circadiane Rhythmen. Die übrigen 10 weisen Rhythmusstörungen auf (Tabelle 5). Von den zu Versuchsende noch lebenden Käfern sind 11 dauernd intern gleichphasig und 119 weisen Störungen auf (Tabelle 6). Ein Vergleich zwischen den überlebenden und den gestorbenen Käfern ergibt keinen signifikanten Zusammenhang zwischen Rhythmusstörungen und Mortalität (χ^2-Test, P = 0,09).

Tabelle 5: Circadiane Rhythmen der 13 Mehlkäfer, die während der Versuche bei konstanter Temperatur (15 °C, 20 °C, 25 °C) sterben.

circadiane Rhythmen	Anzahl der Käfer
intern gleichphasig + dauernd vorhanden	3
intern gleichphasig + fehlt zeitweise	1
intern verschiedenphasig + dauernd vorhanden	3
intern verschiedenphasig + fehlt zeitweise	1
fehlt einseitig	2
fehlt beidseitig	3

Tabelle 6: Sterblichkeit der Mehlkäfer ohne und mit circadianen Rhythmusstörungen bei Experimenten mit konstanter Temperatur (15 °C, 20 °C, 25 °C).

	überlebende	sterbende
ohne Rhythmusstörungen	11	3
mit Rhythmusstörungen	119	10

4 Diskussion

4.1 Der circadiane Rhythmus des Elektroretinogramms

Die circadianen Empfindlichkeitsänderungen des Tenebrio-Auges beruhen zumindest teilweise auf Schirmpigmentwanderungen. Nach Wada & Schneider (1968) bilden die Hauptpigmentzellen in den Ommatidien des Komplexauges von Tenebrio molitor Pupillen, deren Weite sich sowohl im Dauerlicht als auch im Dauerdunkel circadian ändert.

Eine retinomotorische Verschiebung der Rhabdome erfolgt im Tenebrio-Komplexauge unter tagesperiodisch wechselnden Beleuchtungsbedingungen, steht aber nicht unter dem Einfluß einer inneren Uhr (Wada & Schneider 1968).

Schirmpigmentwanderung braucht jedoch nicht der einzige Mechanismus zu sein, der zu einer circadianen Empfindlichkeitsänderung des Auges führt. Denkbar ist auch, daß sich die Sehpigmentmenge circadian ändert. Das menschliche Auge z. B. adaptiert durch Zerfall des Sehfarbstoffes. Dabei besteht zwischen der gebleichten Rhodopsinmenge und dem Logarithmus für die Schwelle der Beleuchtungsstärke, von der an ein Lichtblitz wahrgenommen wird, eine lineare Beziehung (Rushton 1961). Bei der schirmpigmentfreien Mutante chalky von Calliphora erythrocephala läßt sich die Adaptation nach Lichtblitzen durch Zerfall und Resynthese des Sehpigments Rhodopsin deuten (Hamdorf & Kaschef 1965).

Die Photorezeptormembran der Krabbe Grapsus ist in der Nacht 20mal größer als am Tage, weil sich die Anzahl und die Länge der Mikrovilli der Lichtsinneszellen tagesrhythmisch ändert (Nässel & Waterman 1979). Vermutlich steuert ein circadianer Oszillator diesen täglichen Membranumbau. Mit der Photorezeptormembrangröße ändert sich wahrscheinlich auch die Sehfarbstoffmenge.

Eine weitere Möglichkeit ist, daß die Erregbarkeit der Photorezeptormembran einen circadianen Rhythmus aufweist. Dann würden sich, ähnlich wie bei der Membranadaptation von Lichtsinneszellen (Hildebrand et al. 1974), z. B. die Permeabilität oder der Ionengradient an der Photorezeptormembran ändern.

Eine Erregbarkeitsänderung des Photorezeptors würde vermutlich zu einer Änderung in der Form des Elektroretinogramms führen. Dagegen ist bei Schirmpigmentwanderungen nur eine Änderung der ERG-Höhe zu erwarten, weil das Schirmpigment alleine die Beleuchtungsstärke herabsetzt, die auf die Photorezeptormembran trifft. Allerdings ist die ERG-Form bei Drosophila-Augenmutanten mit vermindertem oder fehlendem Schirmpigment gegenüber dem Wildtyp leicht verändert (Hengstenberg & Götz 1967).

Bei den vorliegenden Untersuchungen hat T. molitor keine circadianen Formänderungen im ERG. Jedoch fand Schneider (persönliche Mitteilung) bei höherer Reizlichtfrequenz, die mit einer rotierenden Sektorscheibe erzeugt wurde, einen circadianen Wechsel der ERG-Form bei T. molitor.

Circadiane Formänderungen im ERG wurden auch von Jahn & Crescitelli (1940) an Carabiden beobachtet. Bei diesen besteht das ERG am Tage aus einer monophasischen und in der Nacht aus einer komplexen polyphasischen Welle. Das ERG von Dytiscus (Jahn & Wulff 1943) und Anoplognathus (Meyer-Rochow & Horridge 1975) ändert sogar seine Polarität tagesperiodisch. Während des Tages ist die ERG-Welle positiv und während der Nacht negativ. Da sich das ERG aus zwei Hauptkomponenten - dem Rezeptorpotential und dem Potential der Lamina ganglionaris - zusammensetzt, die durch unterschiedlich tief ins Auge eingeführte Elektroden getrennt registriert werden können (Heisenberg 1971), wäre bei Formveränderungen zu klären, welche der beiden Komponenten hieran beteiligt sind.

4.2 Die Temperaturabhängigkeit der ERG-Höhe

Bei Mehlkäfern, die an 20 °C adaptiert sind, nimmt die ERG-Höhe mit steigender Untersuchungstemperatur bis 30 °C stark zu und sinkt danach sofort wieder ab. Fand die Adaptation bei 25 °C statt, dann bleibt die ERG-Höhe zwischen 25 °C und 35 °C ungefähr gleich (Abb. 11). Infolge dieser Akklimatisationsverhältnisse ist das Tenebrio-Auge bei 30 °C besonders lichtempfindlich, wenn zuvor die Temperatur einige Tage 20 °C beträgt. Ein solcher Temperaturanpassungsmechanismus wäre z. B. dann ökologisch sinnvoll, wenn die Mehlkäfer während der ersten warmen Nächte nach einer kühleren Periode zum Licht flögen, da sie dann ihr Ziel besonders gut wahrnehmen können. Hierzu liegen jedoch keine ökologischen Beobachtungen vor.

Die Temperatur, bei der das ERG die maximale Amplitude annimmt, liegt bei T. molitor mit 30 °C verhältnismäßig hoch. Apis mellifica hat die größte Lichtempfindlichkeit bei 25 °C (Seibt 1967), Calliphora bei 20 °C (Hamdorf & Keller 1962) und der Einsiedlerkrebs Eupagurus bei 12 °C (Stieve 1960). Bei der Wanze Oncopeltus fasciatus hat die Lichtadaptation großen Einfluß. Zwischen 10 °C und 30 °C ist das helladaptierte Auge nahezu temperaturunabhängig, während im gleichen Bereich beim dunkeladaptierten Auge die ERG-Höhe mit steigender Temperatur kleiner wird (Dudek 1975).

Da die Temperaturabhängigkeit der ERG-Höhe bei Mehlkäfern mit und ohne Antennen fast gleich ist, können Thermorezeptoren, die möglicherweise auf den Antennen sitzen, unter den gegebenen Bedingungen keinen oder kaum Einfluß auf die Augen haben. Allerdings sind bei Insekten Temperaturrezeptoren nicht nur auf den Antennen, sondern auch auf den Tarsen, Palpen und Cerci nachgewiesen worden (Herter 1924, Gebhardt 1953, Kerkut & Taylor 1957). In den hier vorliegenden Untersuchungen fehlen allen Mehlkäfern die Tarsen, da die Beine bei der Präparation abgetrennt werden.

Über die Mechanismen der Temperaturabhängigkeit und Akklimatisation gibt Wieser (1973) eine Zusammenstellung. Danach braucht Temperaturunabhängigkeit durchaus nicht auf Regulationsvorgängen zu beruhen. Ein Transportmechanismus kann limitiert sein, so daß Temperaturerhöhung den biologischen Prozeß nicht steigert. Außerdem ist die Temperaturkurve in der Regel eine Hüllkurve, die sich aus der Temperaturabhängigkeit vieler Teilsysteme zusammensetzt, und kann deshalb ein Plateau haben. Akklimatisation beruht vor allem auf Umstrukturierung biologischer Membranen, auf Änderung der Enzymkonzentration, wobei manchmal der jeweiligen Temperatur angepaßte Isoenzyme gebildet werden, oder auf Änderung der Enzymaktivität durch Konformationsänderung.

4.3 Der Einfluß niedriger Temperatur auf den circadianen Rhythmus

Bei konstanten Temperaturen um 10 °C weist der circadiane ERG-Rhythmus von Tenebrio molitor entweder eine sehr unregelmäßige Periode von 19 - 26 h auf oder circadiane Änderungen fehlen völlig. Untersuchungen an anderen Organismen zeigen ebenfalls, daß der circadiane Rhythmus schon bei derartigen Temperaturen Störungen unterliegt. So können abnorm lange Perioden auftreten. Die Periode der Schlüpfrhythmik der Stabheuschrecke Dixippus morosus dauert bei 11 °C mehrere Tage, während sie bei 22 °C ca. 24 h beträgt (Kalmus 1938). Andererseits können auch extrem kurze Perioden auftreten. Phaseolus hat bei 10 °C Perioden zwischen 8 h bis 18 h und im Vergleich dazu bei 22 °C eine Periode von 27,5 h (Bünning & Tazawa 1957).

Unterhalb von 11 °C haben vermutlich nur wenige poikilotherme Lebewesen einen circadianen Rhythmus mit einer Periode von ca. 24 h. Nach einer Literaturübersicht von Sweeney & Hastings (1960) besitzen bloß Cambarus und Uca bei 7 °C bzw. 6 °C circadiane Rhythmen von ca. 24 h. Laut Originalliteratur verliert sich allerdings der circadiane Farbwechsel der Krabbe Uca bei 6 °C im Laufe einiger Tage (Brown & Webb 1948), und die Periode der circadianen Augenpigmentwanderung des Krebses Cambarus bei 7 °C wird lediglich auf Grund von zwei Meßwerten pro Tag auf ca. 24 h geschätzt (Welsh 1941).

Wird bei Tenebrio molitor die Temperatur für 48 h auf 7 - 8 °C abgesenkt, dann fehlt während dieser Zeit ein circadianer ERG-Rhythmus. Eine im Anschluß daran erfolgende Temperaturerhöhung auf 20 °C löst den circadianen Rhythmus wieder aus. Dabei beginnt die subjektive Nacht immer gleichzeitig mit dem Temperaturwechsel oder setzt mit kurzer Verzögerung sofort danach ein. Der Beginn dieser ersten subjektiven Nacht ist somit unabhängig von der circadianen Zeit, zu der das niedrige Temperaturintervall anfängt.

Entsprechende Ergebnisse liefern auch Untersuchungen an an-

deren Organismen. So koinzidiert nach 48 h bei 12 °C bei der Schabe Leucophaea immer die gleiche Phase des circadianen Laufaktivitätsrhythmus mit dem Temperaturanstieg (Roberts 1962).

Nach einer Hypothese von Bünning (1963, S. 75) beginnt der circadiane Rhythmus bei Temperaturerhöhung immer in der gleichen Phase, weil die circadiane Schwingung aus zwei Komponenten besteht, einem Spannungs- und einem Entspannungsvorgang von je ca. 1/2 Tag Dauer. Während der erste Vorgang Energie benötigt, läuft der zweite auch ohne Energiezufuhr weiter. Von einer gewissen Abkühlung an setzt immer der Entspannungsvorgang ein, unabhängig davon, in welcher Phase der circadiane Oszillator sich befindet. Hält die Abkühlung lange genug an, so erreicht die Entspannung eine Ruhelage. Nach Temperaturerhöhung startet der Oszillator dann von diesem Ruhepunkt aus immer mit der gleichen Phase.

Der Temperaturbereich, in dem der circadiane Oszillator arbeitet, ist somit relativ eng. Wie bei Tenebrio wird die innere Uhr von einigen Organismen schon knapp unterhalb von 10 °C arretiert; derartige Lebewesen stammen meist aus wärmeren Regionen (Bünning 1963). Der circadiane Leuchtrhythmus der Alge Gonyaulax fehlt schon bei 11,5 °C (Hastings & Sweeney 1957). In der Regel muß die Temperatur auf 5 °C bis 0 °C sinken, damit die innere Uhr stehen bleibt (Bünning 1963, S. 52 ff).

4.4 Intern gleichphasige circadiane Rhythmen bei konstanter Temperatur

Während die Periode vieler biologischer und biochemischer Schwingungen mit steigender Temperatur stark abnimmt (van't Hoffsche Regel: $Q_{10} = 2 - 4$; z. B. Herzschlag: Dittmer & Grebe 1959, Glycolyseoszillationen: Hess et al. 1966), ist der circadiane Rhythmus weitgehend temperaturunabhängig. Untersuchungen an vielen unterschiedlichen Tieren und Pflanzen haben gezeigt, daß seine Periode einen Q_{10} zwischen 0,8 und 1,2 hat (z. B.: Bünning 1963, S. 45 f).

Bei Mehlkäfern mit Antennen bleibt die Periode zwischen 20 °C und 25 °C konstant ($Q_{10} = 1,0$). Dabei wird die subjektive Nacht kürzer ($Q_{10} = 0,9$) und der subjektive Tag länger ($Q_{10} = 1,1$). Möglicherweise trägt diese gegenläufige Änderung der beiden Abschnitte des circadianen Rhythmus mit zur Temperaturunabhängigkeit der circadianen Periode bei.

Verschiedene Hypothesen versuchen die Temperaturunabhängigkeit des circadianen Rhythmus zu erklären. Nach Bünning (1958) laufen Kompensationsvorgänge ab, an denen mehrere Teilprozesse mit unterschiedlichen Temperaturkoeffizienten beteiligt sind. Im Membran-Modell von Njus et al. (1974), das eine oszillierende Rückkoppelung zwischen Membranpermeabilität und Ionenkonzentration zu beiden Seiten der Zellmembran für K^+ annimmt, wird bei wechselnden Temperaturen durch Änderung der Membranlipide eine konstante Membranfluidität aufrecht erhalten. Beim biochemischen Modell von Pavlidis & Kauzmann (1969) sinkt die Enzymkonzentration mit steigender Temperatur. Nach der Chronon-Hypothese von Ehret & Trucco (1967), die DNA-Transscription als wesentliches Element des circadianen Mechanismus ansieht, besteht Temperaturunabhängigkeit, weil die Dauer des circadianen Zyklus hauptsächlich von nahezu temperaturunabhängigen Diffusionsprozessen bestimmt wird.

Bei Mehlkäfern ohne Antennen ist die subjektive Nacht länger und der subjektive Tag kürzer als bei Käfern mit Antennen

(Abb. 14). Dabei hat die Amputation der Fühler bei 25 °C auf die Dauer von subjektiver Nacht und subjektivem Tag annähernd die gleiche Wirkung wie eine Absenkung der Temperatur von 25 °C auf 20 °C. Bei Käfern mit Antennen dauert die subjektive Nacht bei 25 °C 12,0 h. Fehlen die Antennen (bei 25 °C) oder beträgt die Temperatur 20 °C (bei Käfern mit Antennen), so dauert die subjektive Nacht 12,7 h bzw. 13,0 h. Bei Käfern mit Antennen dauert der subjektive Tag bei 25 °C 12,6 h. Fehlen die Antennen (bei 25 °C) oder beträgt die Temperatur 20 °C (bei Käfern mit Antennen), so dauert der subjektive Tag 11,7 h bzw. 11,9 h.

4.5 Temperaturzyklen

Eine Synchronisation circadianer Rhythmen durch Temperaturzyklen konnte bei poikilothermen Lebewesen (Leucophaea: Roberts 1962, Drosophila: Pittendrigh 1960, Lacerta: Hoffmann 1968), nicht aber bei homoiothermen Tieren (Flughörnchen: De Coursey 1960, Hamster: Bruce 1960) nachgewiesen werden.

Tenebrio weicht von dieser Regel ab. Er verliert bei steter Dunkelheit durch einen tagesperiodischen, sägezahnförmigen Temperaturrhythmus, der zwischen 15 °C und 25 °C schwankt, seine circadiane Laufaktivität (Cloudsley-Thompson 1953).

Die Mehlkäfer reagieren mit ihren circadianen ERG-Rhythmen individuell verschieden auf Temperaturzyklen. Je nach Schwingungsbreite und mittlerer Temperatur der Zyklen ist in den Versuchen der Anteil der Tiere mit extern synchronem circadianem Rhythmus bei Phasenwinkeldifferenz 0° unterschiedlich groß.

(12 h : 12 h / 20 °C : 25 °C)-Zyklen mit einer Schwingungsbreite von 5 °C synchronisieren 60 % (6 von 10) der Mehlkäfer, deren Rhythmen eine externe Phasenwinkeldifferenz von 0° erreichen. Bei einer doppelt so hohen Schwingungsbreite von 10 °C werden von (12 h : 12 h / 20 °C : 30 °C)-Zyklen alle 5 Versuchstiere synchronisiert. Der Unterschied ist bei den kleinen Versuchszahlen allerdings nicht signifikant (χ^2-Test, P = 0,1). Eine Abhängigkeit der externen Synchronisation von der Schwingungsweite der Temperaturzyklen ist für die circadiane lokomotorische Aktivität von Lacerta beschrieben worden. Dort nimmt der Anteil der Eidechsen, deren circadianer Rhythmus durch 24stündige sinusförmige Temperaturzyklen synchronisiert wird, mit wachsender Schwingungsbreite der Temperaturzyklen zu (Hoffmann 1969). Auch bei Lichtzyklen wird manchmal nur ein Teil der rhythmisch aktiven Tiere synchronisiert, so bei der Laufaktivität von Carabus (Lamprecht & Weber 1973).

Möglicherweise beeinflußt bei T. molitor nicht nur die Schwin-

gungsbreite sondern auch die mittlere Temperatur der Schwingung den Prozentsatz der synchronisierten Käfer. So synchronisieren (12 h : 12 h / 15 °C : 20 °C)-Zyklen mit einer mittleren Temperatur von 17,5 °C 90 % (9 von 10) der Käfer gegenüber 60 % (6 von 10) bei (12 h : 12 h / 20 °C : 25 °C)-Zyklen mit 5 °C höherer mittlerer Temperatur aber gleicher Schwingungsbreite. Zwar ist der Unterschied nicht signifikant (χ^2-Test, P = 0,1), aber dies kann an der geringen Anzahl der Versuche liegen.

Vermutlich unterscheiden sich die Mechanismen der externen Synchronisation auf den verschiedenen Temperaturniveaus. Dafür spricht der andersartige Ablauf der Synchronisation bei hoher und niedriger Temperatur. Die Synchronisation benötigt bei (12 h : 12 h / 15 °C : 20 °C)-Zyklen höchstens 2 d. Die Periodenverlängerungen und -verkürzungen können dabei viele Stunden betragen. Bei (12 h : 12 h / 20 °C : 25 °C)-Zyklen hingegen werden für die Synchronisation bis zu 8 d oder möglicherweise noch länger benötigt. Hier fehlen starke Phasenverschiebungen und sind Periodenverkürzungen selten.

Synchronisieren die Temperaturzyklen den circadianen Rhythmus nur in einem der beiden Komplexaugen, so löst sich diese Bindung alsbald wieder. Eine derartige vorübergehende externe Synchronisation hat auch Hoffmann (1969) für die lokomotorische Aktivität von Lacerta sicula bei sinusförmigen Temperaturzyklen als "zeitweiliges Hängenbleiben" beschrieben.

Einige Mehlkäfer weisen während Temperaturzyklen oberhalb von 14 °C intern verschiedenphasige Rhythmen auf. Hierzu zählen zunächst diejenigen Käfer, deren Rhythmen dies schon zu Beginn der Temperaturzyklen sind. Die circadianen Rhythmen können während der Temperaturschwankungen intern verschiedenphasig bleiben. Sie sind in diesem Fall freilaufend. Werden dagegen die beiden intern verschiedenphasigen circadianen Rhythmen extern synchronisiert, so nehmen sie zwangsläufig auch die gleiche Phase ein. Umgekehrt kann interne Asynchronie durch Temperaturzyklen ausgelöst oder gefördert werden. Dies

geschieht, wenn der circadiane Rhythmus eines Auges synchron zum Temperaturrhythmus wird, während er auf dem anderen weiterhin freiläuft. Hier besteht allerdings oft schon zuvor eine geringe interne Phasenwinkeldifferenz von 6^{o} - 25^{o}.

Externe Synchronisation in Antiphase ist sehr selten. Sie stellt sich nur bei 2 Käfern ein. Außerdem kann sie in die normale 0^{o}-Phasenwinkeldifferenz-Synchronie übergehen. Dies geschieht bei einem dieser Käfer nach Phasenverschiebung der Temperaturzyklen.

Wenn eine externe Synchronisation auftritt, liegt in der Regel die subjektive Nacht bei T. molitor während des niedrigen Temperaturintervalls. Die Phasenbeziehung zwischen circadianem Rhythmus und Temperaturrhythmus ist bei den einzelnen Tierarten wegen der unterschiedlichen ökologischen Anpassungen recht variabel. Drosophila schlüpft bei rechteckförmigen Temperaturzyklen in der zweiten Hälfte des niedrigen Temperaturintervalls (Zimmerman et al. 1968) und entsprechend bei sinusförmigen Zyklen während des Temperaturanstiegs (Bruce 1960). Die circadiane Laufaktivität der Schabe Leucophaea ist bei sinusförmigen Temperaturzyklen synchron zum Intervall mit der abfallenden Temperatur (Roberts 1962). Bei der Ruineneidechse Lacerta sicula ist die Phasenbeziehung des extern synchronen circadianen Aktivitätsrhythmus zum Temperaturzyklus nicht starr. Vielmehr liegt die Mitte der Aktivitätszeit 0 h bis 8 h vor dem Temperaturmaximum und beginnt dabei um so früher, je kürzer die Spontanperiode des circadianen Rhythmus ist (Hoffmann 1969).

4.6 Phasenresponse

Bei T. molitor zeigen die Phasenresponsediagramme für Temperatursprünge sowohl positive als auch negative Phasenverschiebungen (Abb. 26). Wegen der geringen Anzahl der Messungen, kann ein statistisch gesicherter Verlauf der Phasenresponsekurven nicht angegeben werden. Sollte sich jedoch ein Richtungswechsel der Phasenverschiebungen in weiteren Untersuchungen bestätigen, dann haben die Phasenresponsekurven von T. molitor einen ganz anderen Verlauf, als er sonst beobachtet wird. Die Responsekurven der bisher untersuchten Organismen Bryophyllum (Wilkins 1962), Phaseolus (Moser 1962) und Drosophila (Zimmerman et al. 1968) weisen für Temperaturerhöhung nur positive und für -senkung nur negative Phasenverschiebungen auf, die allerdings bei bestimmten Phasenwinkeln auch Null sein können. Nur die Phasenresponsekurven für Temperaturimpulse und für sprunghaften Wechsel der Lichtimpulse nehmen sowohl positive als auch negative Werte an (Moser 1962, Zimmerman et al. 1968).

Die Lage der Meßwerte unterscheidet sich in einigen Phasenresponsediagrammen bei T. molitor, so daß die Phasenresponsekurven möglicherweise bei den verschiedenen Temperaturstufen einen unterschiedlichen Verlauf nehmen. Auch derartiges ist bisher für andere Tiere und Pflanzen nicht beschrieben worden. Unterschiedliche Responsekurven sind auch nach den Temperaturzyklus-Experimenten zu erwarten, weil bei diesen je nach Temperaturniveau das Ausmaß und die Schnelligkeit, mit der die Synchronisation erfolgt, verschieden ist.

Bei intern verschiedenphasigen Rhythmen mit starker Koppelung sollten sich die Phasenresponsekurven in Abhängigkeit von der internen Phasenwinkeldifferenz ändern, weil infolge der gegenseitigen Beeinflussung der beiden Rhythmen eine zusätzliche Verschiebung zu erwarten ist. Aus den wenigen vorliegenden Ergebnissen können keine Schlüsse gezogen werden. Auffallend ist allerdings zweierlei. Manchmal zeigen Rhythmen mit nur geringer interner Phasenwinkeldifferenz große Unterschiede in der Phasenverschiebung, z. B. Nr. 7 in Abb. 26 B. Zum anderen ist vielfach zwischen der Lage der Meßwerte von Rhythmen ohne und mit interner Phasenwinkeldifferenz kein auffallender Unterschied festzustellen.

4.7 Lokale Temperaturrhythmen

Zur lokalen Untersuchung des circadianen Mechanismus werden eng begrenzte Bereiche des Mehlkäferkopfes erwärmt. Die Methode der lokalen Erwärmung bzw. Abkühlung wurde z. B. erfolgreich am Wirbeltierherz zur Lokalisation des Schrittmachers der rhythmischen Erregungsbildung angewandt. Menzel et al. (1974) benutzten dieses Verfahren, um durch örtlich begrenzte Kühlung des Bienengehirns die Lernleistung verschiedener Hirnregionen zu untersuchen.

Diese Methode ist jedoch bei einem so kleinen Objekt wie einem Insektenkopf nicht problemlos. Wie die vorgenommenen Messungen zeigen, entsteht trotz einer großen Differenz von 13,5 °C zwischen Heizdraht (31,5 °C) und Luft (18 °C) im Mehlkäferkopf nur ein geringes Temperaturgefälle von ca. 3 °C.

In einer Umgebung von 0,7 - 1,0 mm vom Heizdraht herrscht nahezu gleiche Temperatur. Da der Draht am Augeninnenrand angebracht ist, kann davon ausgegangen werden, daß jeweils eine Kopfhälfte erwärmt wird und der Temperaturabfall etwa in der Kopfmitte eintritt. Allerdings wird auch die gegenüberliegende Kopfseite leicht erwärmt.

Von zwei konkurrierenden Temperaturzyklen mit unterschiedlichen Perioden zwischen 24 h und 26 h auf beiden Kopfseiten synchronisiert in der Regel der mit der kürzeren Periode die circadianen Rhythmen beider Augen. Nur bei einem Versuch sind beide Heizzyklen wirksam und synchronisieren jeweils den circadianen Rhythmus des ihnen benachbarten Auges. Danach ist die Kopplung zwischen zwei intern gleichphasigen circadianen Oszillatoren verhältnismäßig stark. Ob bei Temperaturzyklen mit Perioden unterhalb von 24 h ebenfalls der Rhythmus mit der kürzeren Periode dominiert, ist leider nicht untersucht worden. In ähnlichen Versuchen bei Blaps mit Lichtzyklen tritt interne Desynchronisation auf; ein Auge wird von einem 24stündigen Hell-Dunkel-Rhythmus synchronisiert, während das andere gleichzeitig bei Dauerdunkel seine freilaufende Periode beibehält (Köhler & Fleissner 1978).

4.8 Circadiane Rhythmusstörungen

Die circadiane Periodik weist bei Tenebrio molitor eine große individuelle Variabilität auf. Neben Käfern mit ständig deutlich vorhandenem Rhythmus sind ebenso Tiere mit unregelmäßigem bzw. teilweise oder sogar gänzlich fehlendem circadianem Rhythmus zu beobachten. Manchen anderen Organismen fehlt die Rhythmik nur unter speziellen Bedingungen. Blaulicht hemmt den circadianen Rhythmus der Konidienbildung von Neurospora (Sargent & Briggs 1967). Die circadianen Blattbewegungen von Phaseolus multiflorus lösen sich einige Tage nach 15minütiger Beleuchtung allmählich in Teilschwingungen auf (Bünning 1935). Lichtimpulse während bestimmter circadianer Phasen führen zum Erlöschen des circadianen Aktivitätsrhythmus bei Apis mellifera (Spangler 1973) und des Schlüpfrhythmus bei Drosophila (Winfree 1970, Chandrashekaran & Engelmann 1973). Mattes Licht unterdrückt ebenfalls den circadianen Schlüpfrhythmus von Drosophila (Winfree 1974). Im konstanten hellen Licht wird der circadiane Aktivitätsrhythmus von Passer domesticus (Mc Millan et al. 1975) und von Blattella germanica (Dreisig & Nielsen 1971) arrhythmisch. Weibliche Ameisen verlieren durch die Paarung ihren Aktivitätsrhythmus (McCluskey & Carter 1969). Die tagesperiodische Laufaktivität ist nicht bei allen Käfern derselben Art vorhanden; sie verliert sich vermutlich bei älteren Carabiden im Anschluß an die Fortpflanzungsphase (Lamprecht & Weber 1973). Bei T. molitor dagegen sind schon junge Käfer nicht rhythmisch.

Für ein Fehlen des circadianen Rhythmus sind verschiedene Mechanismen denkbar. So kann zwar ein funktionierender Oszillator vorhanden, aber seine Einflußnahme aufs Auge unterbrochen sein. Weiter besteht die Möglichkeit, daß der circadiane Oszillator sich in einem nichtschwingenden Zustand befindet. Die circadiane Schwingung läßt sich mathematisch als Grenzzyklus beschreiben. Derartige Grenzzyklen können nach Störimpulsen in Zustände (Singularitäten) überwechseln, von denen sich normale Rhythmik nicht oder nur mit zeitlicher Verzögerung entwickelt (Pavlidis 1978).

Außerdem kann der circadiane Oszillator infolge erblicher Variabilität bei einem Teil der Tiere ausfallen oder in seiner Arbeitsweise verändert sein. So fehlt einer Drosophila melanogaster-Mutante der beim Wildtyp vorhandene circadiane Rhythmus (Konopka & Benzer 1971). Für Phaseolus multiflorus (Bünning 1935), Drosophila melanogaster (Konopka & Benzer 1971), Neurospora crassa (Feldman & Hoyle 1973) und Chlamydomonas reinhardi (Bruce 1974) sind Mutanten mit unterschiedlichen circadianen Perioden nachgewiesen worden.

Bei T. molitor scheinen Außeneinflüsse von Bedeutung zu sein. Rhythmusstörungen werden um so seltener beobachtet, je höher die Versuchstemperatur ist. Bei 15 °C besitzen 3,8 %, bei 20 °C 14,3 %, bei 25 °C 37,5 % und bei 30 °C 66,7 % der Mehlkäfer dauernde, intern gleichphasige circadiane Rhythmen (Kap. 3.4.1). Aber nicht nur das Temperaturniveau, sondern auch die Temperaturänderung hat möglicherweise Einfluß. Sowohl nach Temperaturerhöhung als auch nach -erniedrigung können die circadianen ERG-Rhythmen intern asynchron werden (Kap. 3.10.1).

Da bei den untersuchten Temperaturen niemals alle Käfer ohne Rhythmusstörungen sind, stellt sich die Frage, welche weiteren Faktoren zur Exchronie beitragen. Um zu prüfen, ob die künstlichen Aufzuchtbedingungen im Brutschrank die Ausprägung des circadianen Rhythmus negativ beeinflussen, werden einige Tiere im Labor bei natürlichen Lichtverhältnissen und tagesperiodischen Temperaturschwankungen gehalten. Dies führt aber nicht zu einem höheren Anteil an Tieren mit regelmäßigen intern gleichphasigen Rhythmen. Allerdings sind die Aufzuchtbedingungen erst wenige Wochen vor dem Schlüpfen geändert worden.

Weiterhin kommen vermutlich im Futter vorhandene Insektizidspuren als Ursache für die unregelmäßigen und fehlenden circadianen Rhythmen in Frage. Die Anwendung von Pflanzenschutzmitteln ist heute allgemein üblich. Möglicherweise enthält auch das Futter von T. molitor geringe Insektizidmengen, die zwar nicht zum Tode der Tiere führen, aber physiologische Störungen hervorrufen.

Einige Tiere erhalten ab wenige Wochen vor der Verpuppung Weizenmehl und Haferflocken, die für die menschliche Ernährung in den Handel gebracht worden sind, statt der üblichen Weizenkleie-Hefe-Mischung. Der Wechsel im Futterangebot zeigt keinen Einfluß auf die Ausprägung des circadianen Rhythmus. Dennoch können Insektizide als Ursache der Störungen nicht ausgeschlossen werden, denn denkbar sind auch irreversible Schäden während der frühen Larvenentwicklung, so daß die spätere Verabreichung neuen Futters wirkungslos bleibt. Käfer, die schon eine Generation lang, also ca. 1 Jahr mit dem neuen Futtergemisch aufgezogen werden, sind bei Abschluß dieser Arbeit noch nicht vorhanden. Außerdem kann nicht ausgeschlossen werden, daß auch das neue Futter Insektizide enthält, obwohl für Pestizide in Lebensmitteln Höchstmengen gesetzlich vorgeschrieben sind.

Die Provenienz hat möglicherweise Einfluß auf die Ausprägung der circadianen Rhythmen. Dies braucht jedoch nicht erblich bedingt zu sein. Wahrscheinlich sind die Tiere in den verschiedenen Zuchten auch unterschiedlich aufgezogen worden.

Wieweit die Variabilität der circadianen Rhythmen bei T. molitor genetisch fixiert ist, müßte mit Hilfe von Kreuzungsexperimenten geklärt werden.

4.9 Rhythmusstörungen und Mortalität

Der circadiane Rhythmus paßt den Organismus nicht nur optimal in seine Umwelt ein, sondern stimmt die verschiedenen physiologischen Vorgänge auch zeitlich harmonisch aufeinander ab. Eine Störung des circadianen Rhythmus sollte deshalb die Lebenserwartung herabsetzen. Dies trifft jedoch bei T. molitor nicht zu. Exchronie erhöht bei ihm nicht die Sterberate. Auch Drosophila pseudoobscura, deren circadiane Schlüpfaktivität nach einem Lichtimpuls zum Erliegen gekommen ist, hat keine verkürzte Lebensdauer (Engelmann & Mack 1978).

Vielleicht wirken sich aber bei T. molitor schon die monotonen Versuchsbedingungen ungünstig auf die Lebenserwartung aus, und Exchronie führt zu keiner weiteren Senkung der Lebensdauer. Wird ein 24stündiger Hell-Dunkel-Zyklus jede Woche einmal um 6 h verschoben, so verkürzt dies die Lebensdauer der Fliege Phormia (Aschoff et al. 1971). Bei künstlichen Hell-Dunkel-Zyklen, deren Periode mehrere Stunden von 24 h abweicht, und bei konstantem Licht ist die Lebensdauer von Drosophila melanogaster herabgesetzt (Pittendrigh & Minis 1972). Danach besitzen Organismen nur dann ihre höchste Lebensfähigkeit, wenn ihre Oszillatoren mit dem natürlichen 24-h-Tag eine optimale Abstimmung erreichen.

4.10 Intern verschiedenphasige circadiane Rhythmen

Da bei Tenebrio molitor die circadianen Rhythmen der beiden Augen unterschiedliche Perioden aufweisen können, müssen zwei Oszillatoren vorhanden sein. Zwischen beiden besteht eine Koppelung, denn die Geschwindigkeit, mit der sich die beiden Rhythmen gegeneinander verschieben, ändert sich in gesetzmäßiger Weise. Eine starke Änderung der internen Phasenwinkeldifferenz leitet den Übergang vom intern gleichphasigen zum asynchronen Zustand ein. Mit wachsender Phasenwinkeldifferenz nimmt die Phasendrift zunächst ab und erreicht bei 50° ein Minimum. Anschließend steigt die Geschwindigkeit wieder an. Sie hat zwischen 90° und 100° ein Maximum, dem bei 140° ein Minimum folgt.

Die Kopplung zwischen den beiden Oszillatoren kann so stark sein, daß Phasenverschiebungen nur vorübergehend auftreten und dann für längere Zeit eine konstante Phasenbeziehung zwischen den zwei circadianen Rhythmen besteht. Diese ist bevorzugt bei Phasenwinkeldifferenzen von 50° - 70° und 140° - 160° vorhanden und stimmt mit den Bereichen überein, in denen bei Tieren mit schwächerer Kopplung die Phasendrift Minima aufweist.

Neben circadianen Rhythmen mit langanhaltenden konstanten internen Phasenwinkeldifferenzen einerseits und mit fast ständig sich ändernden Phasenwinkeldifferenzen andererseits sind gleitend Übergänge mit kürzer oder länger dauernden festen Phasenbeziehungen zu beobachten. Hier ist deshalb ein einziger variabeler Mechanismus zu vermuten, der je nach Einstellung stärker die eine oder andere Tendenz verwirklicht. Eine von Aschoff (1973) getroffene Unterscheidung zwischen interner Desynchronisation und interner Dissoziation ist daher bei T. molitor nicht anwendbar. Bei interner Desynchronisation haben die circadianen Rhythmen eines Organismus im steady state unterschiedliche Frequenzen. Bei interner Dissoziation dagegen besteht im steady state eine konstante interne Phasenwinkeldifferenz; nur beim Übergang zu einem neuen steady state

sind unterschiedliche Frequenzen vorhanden. Hingegen können bei T. molitor im steady state - wenn man diesen Begriff hier überhaupt verwenden will - sowohl konstante als auch variabele interne Phasenbeziehungen auftreten.

Ähnliche Wechselwirkungen, wie sie hier zwischen den beiden circadianen Oszillatoren von Tenebrio zu beobachten sind, hat von Holst (1939 a, b) als Magneteffekt für die Flossenschlag-Oszillatoren von Fischen beschrieben. Dabei sucht im einfachsten Fall ein dominanter Oszillator einem abhängigen seinen Takt aufzuzwingen und ihn in einem ganz bestimmten Phasenverhältnis, der stabilen Koaktionslage, festzuhalten. Der beeinflussende Rhythmus verlangsamt den abhängigen, wenn dieser der angestrebten Taktbeziehung voraus ist, und beschleunigt ihn, wenn er hinter ihr zurück bleibt. Die Stärke des Magneteinflusses ist in der Koaktionslage gleich Null, steigt bis Phasenwinkeldifferenz $\pm$ 90° auf ein Maximum und sinkt anschließend bis 180° auf Null. Im Gegensatz zur Koaktionslage bei 0° ist diese zweite Lagebeziehung, bei der keine Beeinflussung stattfindet, labil. Bei 180° ruft jedes Voraneilen des beeinflußten Rhythmus eine weitere beschleunigende, ein Zurückbleiben eine weitere verlangsamende Kraft des unabhängigen Rhythmus hervor. Bei ausreichend starkem Magneteinfluß entsteht absolute Koordination, d. h. der dominante Oszillator zwingt dem abhängigen seine Frequenz auf. Ist der Magneteinfluß schwächer, so entsteht relative Koordination, wobei der abhängige Rhythmus in stetigem Wechsel schneller und langsamer wird. Im allgemeinen wirkt aber nicht ein dominanter Oszillator nur einseitig auf einen abhängigen ein, sondern beeinflussen sich beide Oszillatoren gegenseitig. Dabei ist die Einflußnahme zu jeder Zeit entgegengesetzt. Wirkt in einer bestimmten Phasenbeziehung ein Rhythmus auf den anderen beschleunigend, so verlangsamt dieser umgekehrt den ersten. Bei den entstehenden periodischen Frequenzschwankungen geht stets ein Frequenzmaximum des einen Rhythmus mit einem Minimum des anderen einher und umgekehrt.

Eine gegenläufige Änderung der Perioden ist offenbar bei den circadianen Rhythmen von T. molitor ebenfalls vorhanden, denn die Differenz zwischen den Perioden der beiden Rhythmen ändert sich rhythmisch mit wachsender Phasenwinkeldifferenz. Aber den konträren Periodenänderungen sind meist wesentlich stärkere, mehr oder weniger unregelmäßige Periodenänderungen überlagert, so daß erstere bei Betrachtung der Perioden selbst verborgen bleiben.

Darüberhinaus unterscheiden sich die circadianen Rhythmen von T. molitor noch in einem weiteren Punkt wesentlich von den Flossenschlagrhythmen. Bei den circadianen Rhythmen folgen die Minima der Phasendrift in einem Abstand von 90° aufeinander, bei den Flossenschlagrhythmen dagegen die Minima des Magneteinflusses in einem Abstand von 180°.

Die mit Einschränkungen bestehende Ähnlichkeit zum Magneteffekt der Flossenschlagrhythmen von Fischen ist möglicherweise nicht auf Tenebrio molitor beschränkt, sondern auch für die circadianen Oszillatoren anderer Organismen gültig. So kann der circadiane Aktivitätsrhythmus der Eidechse in relativer Koordination zu tagesperiodischen Temperaturzyklen stehen, wenn letztere eine geringe Amplitude aufweisen (Hoffmann 1969).

Nach den vorliegenden Versuchsergebnissen besitzt T. molitor also für jedes seiner beiden Kompexaugen einen eigenen circadianen Oszillator. Bisher konnten meist nur Indizienbeweise für die Existenz verschiedener circadianer Oszillatoren innerhalb eines Organismus geliefert werden. Dabei lassen sich die Ergebnisse vieler Experimente auch mit nur einem Oszillator erklären.

In diesem Zusammenhang ist zunächst das splitting-Phänomen zu erwähnen, die Aufspaltung eines freilaufenden circadianen Rhythmus in zwei Komponenten. Zu beobachten ist splitting nach Änderung der Lichtintensität (Hörnchen Spermophilus undatus: Pittendrigh 1960, Goldhamster Mesocricetus auratus: Pittendrigh 1974, Spitzhörnchen Tupaia belangeria: Hoffmann

1971) und nach Testosteron-Verabreichung (Star Sturnus vulgaris: Gwinner 1974). Die beiden splitting-Komponenten besitzen anfangs unterschiedliche Frequenzen, bleiben aber, wenn sie sich um 180° gegeneinander verschoben haben, in konstanter Phasenbeziehung. Wegen der zunächst unterschiedlichen Frequenzen der beiden Komponenten wird vermutet, daß an einem solchen bimodalen Rhythmus zwei Oszillatoren beteiligt sind. Pittendrigh & Daan (1976) erklären das splitting ad hoc mit einem morning- und einem evening-Oszillator. Auch die Bezeichnungen "dawn-" und "dusk-Oszillatoren" werden verwendet (Daan & Berde 1978). Mit steigender Lichtintensität wird die Periode des morning-Oszillators kürzer und die des evening-Oszillators länger. Im gekoppelten Zustand besitzen beide die gleiche Periode. Dagegen schlägt Wiedenmann (1980) ein 1-Oszillator-splitting-Modell vor, weil bei der Schabe Leucophaea maderae die beiden Aktivitätsgipfel eines circadianen Zyklus durch Lichtimpulse gleichartig verschoben werden.

Ein weiteres Indiz für 2 Oszillatoren liefert der circadiane Schlüpfrhythmus von Drosophila (Pittendrigh et al. 1958). Der Schlüpfrhythmus zeigt sowohl nach Temperatursprüngen als auch nach 12-h-Lichtimpulsen starke Phasenverschiebungen. Während der Rhythmus nach einem Temperatursprung im Laufe von drei Zyklen zur ursprünglichen Phasenlage zurückkehrt, nimmt er nach einem Lichtimpuls eine neue Phasenlage ein, die mit der Phase des Lichtimpulses übereinstimmt. Pittendrigh et al. (1958) erklären den unterschiedlichen Einfluß von Licht und Temperatur mit einem 2-Oszillator-Modell: Ein temperaturunabhängiger, licht-empfindlicher A-Oszillator steuert einen temperatur-abhängigen, licht-unempfindlichen B-Oszillator. Üblich hierfür sind auch die Bezeichnungen "master-" und "slave-Oszillator" (Kaus 1976). Lichtsignale beeinflussen lediglich die Phase des A-Oszillators. Der B-Oszillator führt daraufhin Phasenverschiebungen durch, bis er wieder mit dem A-Schrittmacher in Phase ist. Temperatursprünge verschieben vorübergehend den B-Oszillator, der anschließend wieder in die ursprüngliche Phasenbeziehung zum unbeeinflußten A-Schrittmacher zurückkehrt.

Andererseits läßt sich der unterschiedliche Einfluß von Licht und Temperatur auch mit einem Oszillator deuten. Dazu haben Pavlidis et al. (1968) für den Drosophila-Schlüpfrhythmus ein Modell entwickelt: Eine Störung wirkt sich auf ein schwingendes System unterschiedlich aus, je nachdem ob dadurch ein Parameter oder eine Zustandsvariable geändert wird. Die Variation eines Parameters beeinflußt die Periode. Die Änderung einer Zustandsvariablen hingegen läßt die Periode konstant, führt aber zu einer Phasenverschiebung. Diese Unterschiede kann man sich leicht an der Schwingungsgleichung für den harmonischen Oszillator $\ddot{x} + \omega^2 x = 0$ verdeutlichen. $\ddot{x}$ und x sind Zustandsvariablen und ω ist Parameter. Im 1-Oszillator-Modell von Pavlidis et al. wirkt Licht als Parameter und Temperatur als Zustandsvariable. Dabei wird für die Temperatur zusätzlich ein Adaptationsmechanismus angenommen (Pavlidis 1973).

Manche Insekten besitzen vermutlich 2 circadiane Oszillatoren, die in den beiden Lobi optici lokalisiert sind. Hierfür sprechen besonders Untersuchungen der circadianen Laufaktivität von der Schabe Leucophaea maderae. Entfernung beider Lobi optici erzeugt Arhythmie; wird der linke Lobus opticus vom Gehirn und der rechte vom Auge getrennt, dann hat die Schabe bei LD 12 : 12 eine freilaufende Rhythmik (Nishiitsutsuji & Pittendrigh 1968). Exstirpation des linken Lobus opticus und gleichzeitige Mikroläsion in oder nahe der rechten Lobula macht 40 % der Schaben arhythmisch, dagegen nur 5 % bei Mikroläsionen in den übrigen Teilen des rechten Lobus opticus, der Lamina und der Medulla (Sokolove 1975 a). Operative Entfernung des rechten oder linken Lobus opticus verlängert die circadiane Periode (Page et al. 1977). Fehlt der Grille Teleogryllus commodus ein Lobus opticus, bleibt die circadiane Singaktivität erhalten; nach Abtrennung beider Lobi optici vom Gehirn wird die Grille arhythmisch (Loher 1972).

Page et al. (1977) deuten ihre Ergebnisse am 2-Oszillator-Modell. Jeder der beiden Lobi optici enthält danach einen Oszillator. Kopplung zwischen den beiden verkürzt die Periode. Dagegen macht Loher (1972) darauf aufmerksam, daß seine Lo-

bus-opticus-Exstirpations-Experimente sich auch mit einem Oszillator deuten lassen, auf den die Lobi optici einen steuernden Einfluß ausüben. Selbst eine Frequenzänderung, wie sie Page et al. nach Entfernung eines Lobus opticus beobachten, läßt sich mit einem 1-Oszillator-Modell erklären. Zur Verdeutlichung diene als Analogie ein Wasserrad, das durch zwei Kanäle gespeist wird. Verschließt man einen Kanal, trifft weniger Wasser auf das Rad und seine Frequenz verringert sich, ähnlich wie die Frequenz geringer ist, wenn man einen Lobus opticus abtrennt. Werden beide Kanäle gesperrt, dreht sich das Wasserrad nicht mehr, wie eine Schabe arhythmisch wird, wenn ihr beide Lobi optici fehlen.

Verschiedene circadiane Rhythmen können unter dem Einfluß eines gemeinsamen Oszillators stehen, so z. B. der circadiane Lauf- und der circadiane Stridulationsrhythmus der Grille Teleogryllus commodus (Sokolove 1975 b).

Dagegen besitzt manchmal jedes Organ einen eigenen Oszillator. So beschreiben Engelmann & Mack (1978) bei Drosophila pseudoobscura zwei circadiane Oszillatoren, die sich in Periode und Lichtempfindlichkeit unterscheiden. Der eine steuert den Schlüpf- und der andere den Aktivitätsrhythmus. Aber auch hier läßt sich der Einwand erheben, daß möglicherweise nur ein Oszillator vorhanden ist, dessen Eigenschaften sich im Laufe der Ontogenie wandeln.

Nach Untersuchungen von Wever (1975) besitzt der Mensch eine größere Anzahl verschiedener circadianer Oszillatoren, die jeweils mehrere physiologische Vorgänge steuern. Dabei wird jeder dieser Prozesse in unterschiedlichem Ausmaß von mehreren Oszillatoren beeinflußt. Dieses komplexe Wirkungsgefüge gestaltet sich in Teilbereichen überschaubar, da die Oszillatoren sich in zwei verschiedene Gruppen I und II aufteilen lassen und einige physiologische Größen überwiegend nur von einer der beiden Oszillator-Gruppen gesteuert werden, so der Rhythmus der Rektaltemperatur von Gruppe I und der Aktivitätsrhythmus von Gruppe II.

Bei dem Käfer Blaps erfolgt ähnlich wie bei Tenebrio interne Desynchronisation zwischen den circadianen ERG-Rhythmen der beiden Komplexaugen. Durch Belichtung eines Auges wird nur bei diesem, nicht aber beim kontralateralen die Periode um über 3 h vergrößert (Köhler & Fleissner 1978).

Neben Homo sapiens (Wever 1975) und Blaps (Köhler & Fleissner 1978) ist Tenebrio molitor einer der wenigen Organismen, bei denen zweifelsfrei ein circadianes Multi-Oszillatorsystem nachgewiesen werden konnte. Während jedoch bei Blaps die Oszillatoren keine deutliche gegenseitige Beeinflussung zeigen, besteht zwischen den circadianen Oszillatoren von T. molitor eine Koppelung, wodurch sich die Phasendrift in gesetzmäßiger Weise mit der internen Phasenwinkeldifferenz ändert.

4.11 Ökologische Aspekte

Als nachtaktives Insekt benötigt Tenebrio molitor Photorezeptoren, die bei Dunkelheit sehr empfindlich sind. Nur dann kann das spärlich vorhandene Licht in der Nacht genutzt werden. Die circadiane Rhythmik schützt das empfindliche Mehlkäferauge vor zu viel Tageslicht, indem sie es kurz vor Morgendämmerung auf einen weniger empfindlichen Bereich umstellt. Dementsprechend ist gerade bei einem nachtaktiven Tier eine circadiane Beeinflussung des Auges physiologisch und ökologisch sinnvoll.

Die während der Temperaturrhythmen zu beobachtende Bindung der lichtsensitiven Phase des circadianen ERG-Rhythmus an das niedrige Temperaturintervall ist ebenfalls vorteilhaft. In der Nacht herrschen niedrige Temperaturen vor und setzen die Empfindlichkeit des Auges herab. Eine externe Synchronie des circadianen ERG-Rhythmus wirkt dieser Temperaturabhängigkeit entgegen.

Auf künstliche Temperaturzyklen reagiert der circadiane ERG-Rhythmus sehr unterschiedlich. (12 h : 12 h / 15 ^{o}C : 20 ^{o}C)-Zyklen führen sehr schnell bei fast allen Tieren zur Synchronie. Bei (12 h : 12 h / 20 ^{o}C : 25 ^{o}C)-Zyklen dagegen dauert es je nach externer Phasenwinkeldifferenz sehr lange, bis Synchronie erfolgt, und bei vielen Tieren bleibt die Synchronie ganz aus. Damit stellt sich die Frage, wie bedeutungsvoll dieses unterschiedliche Verhalten für den Mehlkäfer in seiner natürlichen Umwelt ist.

Tenebrio molitor lebt überall, wo Müllereierzeugnisse hergestellt oder gelagert werden (Horion 1956). Im Freien wird er im Moder und unter der Rinde alter Bäume, besonders von Eichen und Nadelholz, angetroffen (Zacher 1927). Häufig wird T. molitor in Vogelnestern gefunden, vor allem bei Tauben, Störchen und regelmäßig auch in Geflügelställen (Eichler 1937, Woodroffe 1953, Horion 1956).

Adulte T. molitor leben ca. 1 - 3 Monate (Cotton & George 1929). In der Zucht schlüpfen sie das ganze Jahr über. Im Freien dagegen werden sie vor allem in der wärmeren Jahreszeit beobachtet. So findet man adulte T. molitor im Norden der Vereinigten Staaten im Frühling und den ganzen Sommer über (Cotton & George 1929). In Deutschland wurde über mehrere Jahre in der Nähe eines großen Mühlenwerkes mit Getreidesilos ein Massenanflug zu den benachbarten Häusern im Aug. - Sep. und ein geringerer Flug im Mai - Juni beobachtet (Horion 1956).

Demnach sind adulte T. molitor an eine Zeit mit einer mittleren Temperatur von ungefähr 17 - 23 °C gebunden. Warme Gebiete, wie z. B. den Süden der USA, meidet T. molitor (Cotton & George 1929).

Die in der Temperaturorgel gemessene Vorzugstemperatur beträgt für T. molitor 32 °C (Herter 1942). Dieser hohe Wert steht nicht in Widerspruch zu dem zuvor Gesagten. Bei der Vorzugstemperatur handelt es sich um die Temperatur des Bodens der Meßapparatur aus gut wärmeleitendem Material. Die Luft direkt über dem Boden und damit der Körper des Tieres weisen eine niedrigere Temperatur auf.

Da man davon ausgehen muß, daß der adulte T. molitor vorwiegend während Temperaturen um 20 °C lebt, bleibt offen, welche ökologische Bedeutung das unterschiedliche Verhalten der circadianen Rhythmen bei (12 h : 12 h / 15 °C : 20 °C)- und (12 h : 12 h / 20 °C : 25 °C)-Zyklen hat. Dabei ist zu bedenken, daß neben der Temperatur auch Luftfeuchtigkeit und Licht in recht komplexer Weise das Verhalten von T. molitor beeinflussen (Perttunen & Lahermaa 1963).

5 Zusammenfassung

Die Komplexaugen des Mehlkäfers werden mit einem Flickerlicht von 1 Hz und konstanter Spitzenlichtstärke über einen längeren Zeitraum - meist 2 bis 3 Wochen - gereizt. Dabei wird laufend die ERG-Höhe des Mehlkäferauges automatisch registriert.

Die ERG-Höhe ändert sich in einem circadianen Rhythmus. Während der subjektiven Nacht ist das ERG im Mittel 2,5mal so hoch wie während des subjektiven Tages. Das Mehlkäferauge ist also nachts lichtempfindlicher als am Tage. Nur die ERG-Höhe, nicht aber die ERG-Form weist unter den Versuchsbedingungen einen circadianen Rhythmus auf.

Temperaturabhängigkeit der ERG-Höhe: 20-°C-adaptierte Käfer haben ein scharf begrenztes Maximum der ERG-Höhe bei 30 °C mit einer relativen ERG-Höhe von 165 % (100 % = relative ERG-Höhe kurz vor Temperaturwechsel). 25-°C-adaptierte Tiere besitzen ein plateauförmiges Maximum zwischen 25 °C und 35 °C mit einer relativen ERG-Höhe von 105 % bei 30 °C.

Der circadiane Rhythmus bei niedriger Temperatur: Unterhalb 11 °C fehlt ein circadianer Rhythmus. Bei 11 °C treten unregelmäßige circadiane Perioden zwischen 19 h und 26 h auf. 48 h bei 7 °C oder 8 °C arretieren den circadianen Oszillator. Nach Temperaturerhöhung auf 20 °C startet der circadiane Rhythmus immer in der gleichen Phase, dem Beginn der subjektiven Nacht.

Intern gleichphasige circadiane Rhythmen bei konstanter Temperatur: Mit einer dreifaktoriellen Varianzanalyse wird untersucht, ob Geschlecht (Weibchen, Männchen), Temperatur (20 °C, 25 °C) und Antennen (ohne, mit) einen Einfluß auf Periode, Dauer der subjektiven Nacht (SN), Dauer des subjektiven Tages (ST) und SN/ST-Verhältnis von intern gleichphasigen circadianen Rhythmen ausüben. Bei der Periode ist kein Effekt signifikant. Sie dauert im Mittel 24,7 h. Davon entfallen auf die subjektive Nacht 13,1 h und auf den subjektiven Tag 11,6 h. Bei der

subjektiven Nacht ist der Haupteffekt Temperatur und beim subjektiven Tag der Haupteffekt Antennen signifikant. Beim SN/ST-Verhältnis erreicht der Haupteffekt Temperatur Signifikanz. Der Haupteffekt Antennen ist fast signifikant.

Temperaturzyklen: Unter dem Einfluß von (12 h : 12 h / 11 °C : 20 °C)-Zyklen ist das ERG entsprechend der Temperaturabhängigkeit des Auges bei 20 °C hoch und bei 11 °C niedrig. Manchmal treten unabhängig vom Temperaturwechsel zusätzlich Änderungen der ERG-Höhe auf, die vermutlich circadianen Ursprungs sind.

Die circadianen Rhythmen werden von (12 h : 12 h / 15 °C : 20 °C)-Zyklen unter manchmal starken Phasenverschiebungen meist innerhalb von 2 d synchronisiert, wobei dann die subjektive Nacht mit dem niedrigen Temperaturintervall koinzidiert.

(12 h : 12 h / 20 °C : 25 °C)-Zyklen synchronisieren bei einer externen Phasenwinkeldifferenz von 0° die circadianen Rhythmen von gut der Hälfte der Mehlkäfer. Da starke Phasenverschiebungen fehlen, benötigt die Synchronisation bis zu 8 d oder möglicherweise noch länger.

Bei (12 h : 12 h / 20 °C : 30 °C)-Zyklen werden die circadianen Rhythmen extern synchronisiert. Oft ist während des subjektiven Tages das ERG annähernd so hoch wie während der subjektiven Nacht, da die Temperatur die ERG-Höhe antagonistisch zum circadianen Rhythmus beeinflußt.

Phasenresponse: Bei sprunghaftem Wechsel der Temperatur wird die circadiane Periode bei den Versuchstieren vorübergehend verlängert oder verkürzt. Hierbei scheinen Beziehungen zur Art des Temperatursprungs und zur Phase, in der sich der circadiane Rhythmus während des Temperaturwechsels befindet, zu bestehen.

Lokale Temperaturrhythmen: Mit am Mehlkäferkopf angebrachten Mini-Heizungen werden lokale Temperaturrhythmen erzeugt. Von

zwei konkurrierenden Temperaturzyklen mit unterschiedlichen Perioden zwischen 24 h bis 26 h auf beiden Kopfseiten synchronisiert in der Regel der mit der kürzeren Periode die circadianen Rhythmen beider Augen.

Rhythmusstörungen: Rhythmusstörungen sind um so seltener, je höher die Versuchstemperatur ist. Die Provenienz der Mehlkäfer hat möglicherweise Einfluß auf die Häufigkeit von Rhythmusstörungen. Vorgenommene Änderungen im Futter und in der Aufzucht zeigen keine Wirkung auf die Ausprägung der circadianen Rhythmen. Eine erhöhte Mortalität durch circadiane Rhythmusstörungen läßt sich bei den Versuchstieren nicht feststellen.

Intern asynchrone Rhythmen: Die circadianen Rhythmen der beiden Augen von Tenebrio molitor können spontan asynchron werden. Zwischen den intern asynchronen Rhythmen besteht eine Koppelung. Die Geschwindigkeit mit der sich die Rhythmen gegeneinander verschieben, hängt in gesetzmäßiger Weise von der internen Phasenwinkeldifferenz ab. Der Übergang vom intern gleichphasigen zum asynchronen Zustand wird durch eine starke Änderung der internen Phasenwinkeldifferenz eingeleitet. Die Phasendrift hat Minima bei 50° und 140° und ein Maximum bei 96° interner Phasenwinkeldifferenz.

6 Literatur

Angerer E. v., Ebert H.: Technische Kunstgriffe bei physikalischen Untersuchungen. Braunschweig: Vieweg (1966)

Aréchiga H., Wiersma C. A. G.: Circadian rhythm of responsiveness in crayfish visual units. J. Neurobiol. 1, 71 - 85 (1969)

Aschoff J.: Internal dissociation and desynchronization of circadian systems. Proceedings 21st Internationl Congress of Aviation and Space Medicine, p. 255 (1973)

Aschoff J., Klotter K., Wever R.: Circadian vocabulary. In: Circadian Clocks (Aschoff J., ed.), pp. X - XIX. Amsterdam: North-Holland Publishing Company (1965)

Aschoff J., Saint-Paul U. V., Wever R.: Die Lebensdauer von Fliegen unter dem Einfluß von Zeit-Verschiebungen. Naturwissenschaften 58, 574 (1971)

Brady J.: The physiology of insect circadian rhythms. Adv. Insect Physiol. 10, 1 - 115 (1974)

Brown F. A., Webb H. M.: Temperature relations of an endogenous daily rhythmicity in the fiddler crab, Uca. Physiol. Zool. 21, 371 - 381 (1948)

Bruce V. G.: Environmental entrainment of circadian rhythms. Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol. 25, 29 - 48 (1960)

Bruce V. G.: Recombinants between clock mutants of Chlamydomonas reinhardi. Genetics 77, 221 - 230 (1974)

Bünning E.: Zur Kenntnis der erblichen Tagesperiodizität bei den Primärblättern von Phaseolus multiflorus. Jahrb. wiss. Bot. 81, 411 - 418 (1935)

Bünning E.: Über den Temperatureinfluß auf die endogene Tagesrhythmik, besonders bei Periplaneta americana. Biol. Zbl. 77, 141 - 152 (1958)

Bünning E.: Die Physiologische Uhr. Berlin: Springer (1963)

Bünning E., Tazawa M.: Über den Temperatureinfluß auf die endogene Tagesrhythmik bei Phaseolus. Planta 50, 107 - 121 (1957)

Campbell B. D.: Solar and lunar periodicities in oxygen consumption by the mealworm Tenebrio molitor. Diss. Abstr. 25, 3648 - 3649 (1964)

Chandrashekaran M. K., Engelmann W.: Early and late subjective night phases of the Drosophila pseudoobscura circadian rhythm require different energies of blue light for phase shifting. Z. Naturforsch. 28 c, 750 - 753 (1973)

Clauss G., Ebner H.: Grundlagen der Statistik. Frankfurt am Main und Zürich: Verlag Harri Deutsch (1972)

Cloudsley-Thompson J. L.: Studies in diurnal rhythms. IV. Photoperiodism and geotaxis in Tenebrio molitor (Coleoptera: Tenebrionidae). Proc. R. Ent. Soc. London (A) 28, 117 - 132 (1953)

Cotton R. T., George R. A. S.: The meal worms. Tech. Bull. U. S. Dep. Agric. 95, 1 - 37 (1929)

Daan S., Berde C.: Two coupled oscillators: Simulations of the circadian pacemaker in mammalian activity rhythms. J. theor. Biol. 70, 297 - 313 (1978)

De Coursey P. J.: Phase control of activity in a rodent. Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol. 25, 49 - 56 (1960)

Dittmer D. S., Grebe R. M., eds. : Handbook of Circulation. Philadelphia, London: W. B. Saunders Company (1959)

Dreisig H., Nielson E. T.: Circadian rhythm of locomotion and its temperature dependence in Blattella germanica. J. Exp. Biol. 54, 187 - 198 (1971)

Dudek F. E.: The visual response from the compound eye of Oncopeltus fasciatus: Effects of temperature and sensory adaptation. J. Insect Physiol. 21, 517 - 528 (1975)

Ehret C. F., Trucco E.: Molecular models for the circadian clock. I. The chronon concept. J. theor. Biol. 15, 240 - 262 (1967)

Eichler W.: Vogelnester und Vorratsschädlinge. Mitt. Ges. Vorratsschutz 13, 42 - 49 u. 61 - 64 (1937)

Eidmann H.: Über rhythmische Erscheinungen bei der Stabheuschrecke Carausius morosus. Z. vergl. Physiol. 38, 370 - 390 (1956)

Engelmann W., Mack J.: Different oscillators control the circadian rhythm of eclosion and activity in Drosophila. J. comp. Physiol. 127, 229 - 237 (1978)

Feldman J. F., Hoyle M. N.: Isolation of circadian clock mutants of Neurospora crassa. Genetics 75, 605 - 613 (1973)

Fleissner G.: Circadiane Adaptation und Schirmpigmentverlagerung in den Sehzellen der Medianaugen von Androctonus australis L. (Buthidae, Scorpiones). J. comp. Physiol. 91, 399 - 416 (1974)

Fondacaro J. D., Butz A.: Circadian rhythm of locomotor activity and susceptibility to methyl parathion of adult Tenebrio molitor (Coleoptera: Tenebrionidae). Ann. ent. Soc. Am. 63, 952 - 955 (1970)

Gebhardt H.: Die Lage der wichtigsten Thermorezeptoren bei einigen Insekten. Zool. Jb. Physiol. 63, 558 - 592 (1953)

Glaser W. R.: Varianzanalyse. Stuttgart, New York: Fischer (1978)

Goldsmith T. H., Barker R. J., Cohen C. F.: Sensitivity of visual receptors of carotenoid-depleted flies: A vitamin A deficiency in an invertebrate. Science 146, 65 - 67 (1964)

Gwinner E.: Testosterone induces "splitting" of circadian locomotor activity rhythms in birds. Science 185, 72 - 74 (1974)

Halberg F., Katinas G. S.: Chronobiologic glossary. Int. J. Chronobiol. 1, 31 - 63 (1973)

Hamdorf K., Kaschef A. H.: Adaptation beim Fliegenauge. Z. vergl. Physiol. 51, 67 - 95 (1965)

Hamdorf K., Keller L. R.: Das Verhalten des Elektroretinogramms von Calliphora im Temperaturbereich von -10 °C bis +35 °C. Z. vergl. Physiol. 45, 711 - 724 (1962)

Harker J. E.: Factors controlling the diurnal rhythm of activity of Periplaneta americana. J. Exp. Biol. 33, 224 - 234 (1956)

Hastings J. W., Sweeney B. M.: On the mechanism of temperature independence in a biological clock. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 43, 804 - 811 (1957)

Heisenberg M.: Separation of receptor and lamina potentials in the electroretinogram of normal and mutant Drosophila. J. Exp. Biol. 55, 85 - 100 (1971)

Hengstenberg R., Götz K. G.: Der Einfluß des Schirmpigmentgehalts auf die Helligkeits- und Kontrastwahrnehmung bei Drosophila-Augenmutanten. Kybernetik 3, 276 - 285 (1967)

Herter K.: Untersuchungen über den Temperatursinn einiger Insekten. Z. vergl. Physiol. 1, 221 - 288 (1924)

Herter K.: Über den Temperatursinn von Vorratsschädlingen. Mitt. Ges. Vorratsschutz 18 (1942)

Hess B., Brand K., Pye K.: Continuous oscillations in a cell-free extract of S. carlsbergensis. Biochemical and Biophysical Research Communications 23, 102 - 108 (1966)

Hildebrand E., Stieve H., Hanowski G., Gaube H.: Membrane adaptation in crustacean photorezeptors as revealed by a flash sequence technique. Vision Res. 14, 1399 - 1407 (1974)

Hoffmann K.: Synchronisation der circadianen Aktivitätsperiodik von Eidechsen durch Temperaturcyclen verschiedener Amplitude. Z. vergl. Physiol. 58, 225 - 228 (1968)

Hoffmann K.: Zum Einfluß der Zeitgeberstärke auf die Phasenlage der synchronisierten circadianen Periodik. Z. vergl. Physiol. 62, 93 - 110 (1969)

Hoffmann K.: Splitting of the circadian rhythm as a function of light intensity. In: Biochronometry (Menaker M., ed.), pp. 134 -148, Washington, D. C.: National Academy of Sciences (1971)

Holst E. v.: Entwurf eines Systems der lokomotorischen Periodenbildung bei Fischen. Z. vergl. Physiol. 26, 481 - 528 (1939 a)

Holst E. v.: Die relative Koordination als Phänomen und als Methode zentralnervöser Funktionsanalyse. Erg. Physiol. 42, 228 - 306 (1939 b)

Horion A.: Faunistik der Mitteleuropäischen Käfer Bd. V: Heteromera. Tutzing (1956)

Jahn T. L., Crescitelli F.: Diurnal changes in the electrical response of the compound eye. Biol. Bull. 78, 42 - 52 (1940)

Jahn T. L., Wulff V. J.: Influence of a visual diurnal rhythm on flicker response contour of Dytiscus. Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 48, 660 - 665 (1941)

Jahn T. L., Wulff V. J.: Electrical aspects of a diurnal rhythm in the eye of Dytiscus fasciventris. Physiol. Zool. 16, 101 - 109 (1943)

Janisch E.: Über die Methoden zur Konstanthaltung von Temperatur und Luftfeuchtigkeit im biologischen Laboratoriumsversuch. In: Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. 5.10, S. 87 - 112 (1938)

Kalmus H.: Tagesperiodisch verlaufende Vorgänge an der Stabheuschrecke (Dixippus morosus) und ihre experimentelle Beeinflussung. Z. vergl. Physiol. 25, 494 - 508 (1938)

Kaus P.: Possible adaptive values of the resonant slave in biological clocks. J. theor. Biol. 61, 249 - 265 (1976)

Kerkut G. A., Taylor B. J. R.: A temperature receptor in the tarsus of cockroach, Periplaneta americana. J. Exp. Biol. 34, 486 493 (1957)

Köhler W. K., Fleissner G.: Internal desynchronisation of bilaterally organised circadian oscillators in the visual system of insects. Nature 274, 708 - 710 (1978)

Konopka R. J., Benzer S.: Clock mutants of Drosophila melanogaster. Proc. Nat. Acad. Sci. 68, 2112 - 2116 (1971)

Lamprecht G., Weber F.: Mitnahme, Frequenzdemultiplikation und Maskierung der Laufaktivität von Carabus-Arten (Coleoptera) durch Lichtzyklen. J. Insect Physiol. 19, 1579 - 1590 (1973)

Leggett L. M. W., Stavenga D. G.: Diurnal changes in angular sensitivity of crab photoreceptors. J. comp. Physiol. 144, 99 - 109 (1981)

Loher W.: Circadian control of stridulation in the cricket Teleogryllus commodus. J. comp. Physiol. 79, 173 - 190 (1972)

Lohmann M.: Der Einfluß der Beleuchtungsstärke und Temperatur auf die tagesperiodische Laufaktivität des Mehlkäfers, Tenebrio molitor. Z. vergl. Physiol. 49, 341 - 389 (1964)

Mc Cluskey E. S., Carter C. E.: Loss of rhythmic activity in femal ants caused by mating. Comp. Biochem. Physiol. 31, 217 - 226 (1969)

McMillan J. P., Elliott J. A., Menaker M.: On the role of eyes and brain photoreceptors in the sparrow: arrhythmicity in constant light. J. comp. Physiol. 102, 263 - 268 (1975)

Menzel R., Erber J., Masuhr T.: Learning and memory in the honeybee. In: Browne L. B. (ed.): Experimental Analysis of Insect Behaviour. Berlin, Heidelberg, New York: Springer, pp. 195 - 217 (1974)

Meyer-Rochow V. B., Horridge G. A.: The eye of Anoplognathus (Coleoptera, Scarabaeidae). Proc. R. Soc. Lond. B. 188, 1 - 30 (1975)

Michal K.: Oszillationen im Sauerstoffverbrauch der Mehlwurmlarven (Tenebrio molitor). Zool. Anz. 95, 65 - 75 (1931)

Moser I.: Phasenverschiebungen der endogenen Tagesrhythmik bei Phaseolus durch Temperatur- und Lichtintensitätsänderungen.

Planta 58, 199 - 219 (1962)

Nässel D. R., Waterman T. H.: Massiv diurnally modulated photoreceptor membran turnover in crab light and dark adaptation. J. comp. Physiol. 131, 205 - 216 (1979)

Nie N. H., Hull C. H., Jenkins J. G., Steinbrenner K., Bent D. H.: SPSS. New York: McGraw Hill (1975)

Nishiitsutsuji-Uwo J., Pittendrigh C. S.: Central nervous system control of circadian rhythmicity in the cockroach. III. The optic lobes, locus of the driving oscillations? Z. vergl. Physiol. 58, 14 - 46 (1968)

Njus D., Sulzman F. M., Hastings J. W.: Membrane model for the circadian clock. Nature 248, 116 - 120 (1974)

Page T. L.: Interactions between bilaterally paired components of the cockroach circadian system. J. comp. Physiol. 124, 225 - 236 (1978)

Page T. L., Caldarola P. C., Pittendrigh C. S.: Mutual entrainment of bilaterally distributed circadian pacemakers. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74, 1277 - 1281 (1977)

Page T. L., Larimer J. L.: Neural control of circadian rhythmicity in the crayfish II. The ERG amplitude rhythm. J. comp. Physiol. 97, 81 - 96 (1975)

Pavlidis T.: Biological Oscillators: Their Mathematical Analysis. New York, London: Academic Press (1973)

Pavlidis T.: What do mathematical models tell us about circadian clocks? Bull. Math. Biol. 40, 625 - 635 (1978)

Pavlidis T., Kauzmann W.: Toward a quantitative biochemical model for circadian oscillators. Archs. Biochem. Biophys. 132, 338 - 348 (1969)

Pavlidis T., Zimmerman W. F., Osborn J.: A mathematical model for the temperature effects on circadian rhythms. J. theor. Biol. 18, 210 - 221 (1968)

Perttuner V., Lahermaa M.: The light reactions of the larvae and adults of Tenebrio molitor (Col., Tenebrionidae) and their interference with the humidity reactions. Ann. Ent. Fenn. 29, 83 - 106 (1963)

Pittendrigh C. S.: Circadian rhythms and the circadian organization of living systems. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 25, 159 - 184 (1960)

Pittendrigh C. S.: Circadian oscillations in cells and the circadian organization of multicellular systems. In: The Neurosciences: Third Study Program (Schmitt F. O., Worden F. G., eds.), pp. 437 - 458. Cambridge, Mass.: MIT Press (1974)

Pittendrigh C., Bruce V., Kaus P.: On the significance of transients in daily rhythms. Proc. Nat. Acad. Sci. 44, 965 - 973 (1958)

Pittendrigh C. S., Daan S.: A functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents. V. Pacemaker structure: A clock for all seasons. J. comp. Physiol. 106, 333 - 355 (1976)

Pittendrigh C. S., Minis D. H.: Circadian systems: Longevity as a function of circadian resonance in Drosophila melanogaster. Proc. Nat. Acad. Sci. 69, 1537 - 1539 (1972)

Reiff F.: Die mikrobiologische Erzeugung von Nahrungsmitteln. In: Handbuch der Lebensmittelchemie (Schormüller J., ed.), Bd V / 2. Teil, S. 563 - 576. Berlin, Heidelberg, New York (1968)

Robbins W. E., Kaplanis J. N., Svoboda J. A., Thompson M. J.: Steroid metabolism in insects. Ann. Rev. Ent. 16, 53 - 72 (1971)

Roberts S. K. de F.: Circadian activity rhythms in cockroches II. Entrainment and phase shifting. J. Cell Comp. Physiol. 59, 175 - 186 (1962)

Roberts S. K.: Circadian rhythms in cockroches. Effects of optic lobe lesions. J. comp. Physiol. 88, 21 - 30 (1974)

Rusak B., Zucker I.: Neural regulation of circadian rhythms. Physiol. Rev. 59, 449 - 526 (1979)

Rushton W. A. H.: Rhodopsin-measurement and dark adaptation in a subject deficient in cone vision. J. Physiol. (Lond.) 156, 193 - 205 (1961)

Sachs L.: Angewandte Statistik. Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1978

Sargent M. L., Briggs W. R.: The effects of light on a circadian rhythm of conidiation in Neurospora. Plant Physiol. 42, 1504 - 1510 (1967)

Seibt U.: Der Einfluß der Temperatur auf die Dunkeladaptation von Apis mellifica. Z. vergl. Physiol. 57, 77 - 102 (1967)

Sokolove P. G.: Localization of the cockroach optic lobe circadian pacemaker with microlesions. Brain Research 87, 13 - 21 (1975 a)

Sokolove P. G.: Locomotory and stridulatory circadian rhythms in the cricket, Teleogryllus commodus. J. Insect Physiol. 21, 537 - 558 (1975 b)

Spangler H. G.: Role of light in altering the circadian oscillations of the honey bee. Ann. Entomol. Soc. Am. 66, 449 - 451 (1973)

Stieve H.: Über die Temperaturabhängigkeit des Belichtungspotentials von Eupagurus. Verh. Dtsch. Zool. Ges., Bonn, S. 84 - 89 (1960)

Sweeney B. M., Hastings J. W.: Effects of temperature upon diurnal rhythms. Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol. 25, 87 - 104 (1960)

Vahldiek H.: Operationsverstärker. Stuttgart: Franckh'sche Verlagshandlung (1973)

Wada S., Schneider G.: Circadianer Rhythmus der Pupillenweite im Ommatidium von Tenebrio molitor. Z. vergl. Physiol. 58, 395 - 397 (1968)

Welsh J. H.: The sinus glands and 24-hour cycles of retinal pigment migration in the crayfish. J. Exper. Zool. 86, 35 - 49 (1941)

Wever R.: The circadian multi-oscillator system of man. Int. J. Chronobiol. 3, 19 - 55 (1975)

Wiedenmann G.: Two peaks in the activity rhythm of cockroaches controlled by one circadian pacemaker. J. Comp. Physiol. 137, 249 - 254 (1980)

Wieser W.: Temperaturbeziehungen wechselwarmer Organismen. BIUZ 3, 116 - 123 (1973)

Wilkins M. B.: An endogenous rhythm in the rate of carbon dioxide output of Bryophyllum III. The effects of temperature changes on the phase and period of the rhythm. Proc. R. Soc. B 156, 220 - 241 (1962)

Winfree A. T.: Integrated view of resetting a circadian clock. J. theor. Biol. 28, 327 - 374 (1970)

Winfree A. T.: Suppressing Drosophila circadian rhythm with dim light. Science 183, 970 - 972 (1974)

Woodroffe G. E.: An ecological study of the insects and mites in the nests of certain birds in Britain. Bull. ent. Res. 44, 739 - 772 (1953)

Zacher F.: Die Vorrats-, Speicher- und Materialschädlinge und ihre Bekämpfung. Berlin: Parey (1927)

Zimmerman W. F., Pittendrigh C. S., Pavlidis T.: Temperature compensation of the circadian oscillation in Drosophila pseudoobscura and its entrainment by temperature cycles. J. Insect Physiol. 14, 669 - 684 (1968)

Danksagung

Herrn Prof. Dr. G. Schneider danke ich für das gestellte Thema und den Arbeitsplatz. Besonders für seine freundliche Unterstützung, die er mir zuteil werden ließ, und die Anregungen, die er mir in Diskussionen gab, sei ihm an dieser Stelle mein herzlichster Dank ausgesprochen.

Herrn Dr. P. Bühler (Institut für Zoologie, Universität Hohenheim), Herrn Prof. Dr. A. Buschinger (Institut für Zoologie, Technische Hochschule Darmstadt), Herrn Prof. Dr. W. Kloft (Institut für Angewandte Zoologie, Universität Bonn) und Frau Dr. L. Wendler (Erftstadt) bin ich dankbar für die mir aus ihren Zuchten zur Verfügung gestellten Mehlkäfer.

Vom 1.4.1974 bis 31.3.1976 wurde mir für die vorliegende Arbeit ein Graduiertenstipendium von der Universität Düsseldorf gewährt.

Lebenslauf

Name:	Franz-Josef Schmitz
Geboren:	19.6.1949 in Düsseldorf
Schulbildung:	1955 - 1960: Volksschule
	1960 - 1966: Realschule
	1966 - 1968: Gymnasium
Reifeprüfung:	28.5.1968
Wohnsitz:	Frankfurt am Main, Schneckenhofstr. 9
Hochschulstudium:	ab WS 1968/69 Biologiestudium an der Universität Düsseldorf
	1973 Diplomarbeit am Institut für Zoologie der Universität Düsseldorf: Registrierung der Herzfrequenz beim Mehlkäfer zur Untersuchung circadianer Rhythmen
	ab 1974 Doktorarbeit am Institut für Zoologie der Universität Düsseldorf
Hochschulprüfung:	16.11.1973 Diplom-Hauptprüfung in Biologie Hauptfach: Zoologie Nebenfächer: Neurophysiologie, Botanik, Physik
Berufstätigkeit:	1976 - 1979 wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Zoologie und am Physiologischen Institut 1 der Universität Düsseldorf
	seit 1.4.1981 wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Biophysik der J.-W.-Goethe-Universität Frankfurt am Main